

Journal of Silkworms

Revue des Vers à Soie

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

**Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor**

**H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER**

**Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint**

**COMITE DE REDACTION
EDITORIAL BOARD**

BEAULATON J. (France)
BOSQUET G. (France)
CANTO FONSECA T. (Brésil/Brazil)
CHIANG Y-L. (Chine/China)
COUBLE P. (France)
DATTA R.K. (Inde/India)
DOIRA H. (Japon/Japan)
FOURCHE J. (France)
FUKUDA T. (Japon/Japan)
GOLDSMITH M.R. (USA)
HAZAMA K. (Japon/Japan)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde/India)
KOBAYASHI M. (Japon/Japan)

KRISHNASWAMY S. (Inde/India)
LEGAY J-M. (France)
LIU S-X. (Chine/China)
LU H-S. (Chine/China)
MANO Y. (Japon/Japan)
NARASIMHANNA M.N. (Inde)
OHNISHI E. (Japon/Japon)
PRUDHOMME J-C. (France)
REALI G. (Italie/Italy)
SHIMURA K. (Japon/Japan)
SONWALKAR T.N. (Inde/India)
TAKAHASHI R. (Brésil/Brazil)
TAZIMA Y. (Japon/Japan)
VAGO C. (France)

SOMMAIRE - CONTENTS

Revue / Review

- Alteration of food habit of the domesticated silkworm, *Bombyx mori* 437
 Changement des habitudes alimentaires chez le ver à soie domestique *Bombyx mori* 455
 Y. TAZIMA

Articles originaux / Original papers

- Studies on tissue somatic indices (TSI) of silk gland and gonads of silkworm, *Bombyx mori* L., during fifth instar 463
 Etudes sur les indices somatiques tissulaires (TSI) de la glande séricigène et des gonades du ver à soie *Bombyx mori* L. au 5e âge larvaire 477
 K. VENKATA RAMI REDDY, K.V. BENCHAMIN

- Impact of pupal weight on growth and development of the following generation in the silkworm Indian race NB7 (*Bombyx mori* L.) 481
 Impact du poids de la chrysalide sur la croissance et le développement de la deuxième génération chez la race indienne NB7 du ver à soie (*Bombyx mori* L.) 491
 B.L. VISWEWARA GOWDA, T.K. NARAYANASWAMY, R. MUNI RAJAPPA

- Isolation of a polyvoltine strain with sex-limited larval markings in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : bombycidae) 495
 Isolement d'une souche polyvoltine de ver à soie *Bombyx mori* (Lepidoptera : bombycidae) avec marquages larvaires liés au sexe 503
 J. NAGARAJU, V. PREMALATHA, RAVINDRA SINGH, M.K.R. NOMANI, M.S. JOLLY

- Effects of indole-3-acetic acid (IAA) on the polyvoltine silkworm, the Pure Mysore breed of *Bombyx mori* L. 507
 Effet de l'acide 3-indol-acétique (AIA) sur les vers à soie polyvoltins de la souche Pure Mysore de *Bombyx mori* L. 519
 S.B. MAGADUM, M.A. HOOLI

Increase in silk production after repeated applications with juvenile hormone analogue, Manta, followed by insulin in the Pure Mysore breed of Bombyx mori (L.)	523
--	------------

Augmentation de la production de soie après des applications répétées d'analogue d'hormone juvénile Manta puis d'insuline chez la souche Pure Mysore de Bombyx mori (L.)	529
--	-----

S.B. MAGADUM, M.A. HOOLI

Epidemiology of Cercospora leaf spot disease of mulberry. III. Conidial dispersal and disease incidence	533
--	------------

Epidémiologie de la maladie de la tache du mûrier, Cercospora. III. Dispersion des conidies et incidence de la maladie	541
--	-----

J. SUKUMAR, A. RAMALINGAM

Studies on genetic divergence in mulberry silkworm, Bombyx mori L.	545
---	------------

Etude sur les divergences génétiques chez le ver à soie du mûrier Bombyx mori L.	555
--	-----

M.S. JOLLY, R.K. DATTA, M.K.R. NOAMANI, M.N. SITARAMA IYENGAR,
C.S. NAGARUJ, H.K. BASVARAJ, G. KSHAMA, P. RAMA MOHANA RAO

Brief notes / Notes brèves

Nodal and petiolar organization in the food plants of muga silkworms. A comparative analysis	559
---	------------

Organisation nodale et pétiole chez les plantes nourricières du ver à soie muga. Analyse comparative	565
--	-----

D.P. PALIWAL, P.K. DAS

Effect of cythion treatment on pierced/cut cocoons	567
---	------------

Effet du traitement au cythion sur les cocons percés ou coupés	571
--	-----

V.G. HALLIYAL, K.H. SINNUR

ALTERATION OF FOOD HABIT OF THE DOMESTICATED SILKWORM, *BOMBYX MORI*.

Y. TAZIMA

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, Iikura 1054, Amimachi, Ibaraki-ken, Japan.

*With a purpose of raising breeds well-adapted to artificial diet, efforts have been made in the silkworm to obtain mutations on food habit. Tazima and Kobayashi succeeded first in 1952 in inducing a mutation which was unable to discriminate other plant leaves from mulberry. The mutant was revealed to be controlled by a dominant gene, *Np*, in cooperation with modifier(s). Another mutation was discovered by Yokoyama in 1970 among stock breeds preserved at the National Sericultural Experiment Station. The trait was inherited polygenically and free from lethal genes.*

*Later, challenging again to the induction of more promising mutations, Tazima obtained four kinds of new mutations. In those experiments he noticed a remarkable difference in induced mutation frequencies among parental breeds, and attributed it to the differential potentiality of modifiers, contained in parental breeds. Supporting evidences were obtained by further experiments using synthetic diets, which permitted to assert that the modifier(s) to *Np* was identical with *Wfr* gene(s) contained in Sawa-J.*

From these findings it might not be too much to say that we are now in the close vicinity of the goal.

Keywords : Silkworms, food habit, mutation, artificial diet rearing.

I. INDUCTION OF FOOD PREFERENCE MUTATION BY X-IRRADIATION

The silkworm, *Bombyx mori*, is not monophagous in a strict sense, but practically one may regard it as such, because it prefers mulberry leaves far better than other plant leaves. The mechanism had not been known until 1948, when Torii and Morii found that maxilla-extirpated larva began to eat cherry leaves, due to the incapability of discriminating other leaves from mulberry.

Stimulated by his finding, the present author started in 1952 an experiment to have such mutations induced by radiation. In his first experiment both males and females of a few commercial strains were irradiated at their late pupal stage, and mated to their unirradiated spouses after emergence. X-ray doses given were 6-8 kR. F₁ larvae were examined to see whether they fed on common beet leaves (*Beta vulgaris*).

The reason why beet was chosen for screening was chiefly because of the easiness to find out gnawn marks on the smooth large leaf. Variants fed on beet were picked up and reared on mulberry leaves. But they were checked afterwards several times by feeding them on beet leaves. The frequency of detected variants at the third instar were 11/937,910 (0.001 %), but only one male moth survived, because of the toxicity of beet leaves. The survived male was mated to an unirradiated female of the same strain. F₁ progeny showed normal food habit.

In the second experiment, in which the offsprings of the variant male were irradiated, the frequency of discovered non-preference variants was as high as 363/198,498 (0.183 %) (Table I), but

only 64 of these were confirmed to survive up to the fifth instar. 31 emerged to moth and 23 G₂ batches were obtained by crossing them *inter se*. G₂ batches were reared separately, in which non-preference variants appeared at the frequency of 6.9 %, showing wide variation among batches (1.5-19.2 %). The observation that the variants appeared again in G₂ suggested that these must have occurred as a result of dominant mutation. It was named non-preference (Np), because of its incapability in discriminating mulberry. Wide variation observed among batches suggested that some sets of modifiers might have been concerned with the expression of the mutant character (Tazima and Kobayashi, 1952).

Table I. Summarized results of experiments 1953.

Tableau I. Résultats résumés des expériences de 1953.

Total number examined <i>Nb. total examiné</i>	<u>Variants detected at instar</u>			<u>Variants</u>		Survived to moth <i>Papillons Papillons survivants</i>
	3	4	5	Real no.	Frequency	
	<u>Variants détectés (âge)</u>			<u>Variants</u>		
	<i>3^e</i>	<i>4^e</i>	<i>5^e</i>	<i>Nb. réel</i>	<i>Fréquence</i>	
198,948	354	30	64	363	0.183%	31

1) Selection for higher incidence of non-preference individuals

Selection was continued up to the eighth generation toward higher incidence of non-preference individuals. They were classified into three types with regard to the expressivity i.e., high rank variant that ate beet leaves in the 3rd, 4th and 5th instar and marked with ⊙, middle rank that ate in the 3rd and 5th *stadia* and marked with ○, and other low rank variants. Higher rank variants were used as progenitors for further selection. The incidence decreased to 3.3.% in G₃ but remarkably went up in G₄ showing 25.9 % and kept almost at the same level until G₇ (Fig. 1) (Tazima and Machida, 1957).

2) Lethal gene

In the meantime it was noticed that hatchability of the mutant strain never exceeded 75 % even several generations after irradiation. Whereas, when mutants were crossed with normal type of the C108 strain, the hatchability recovered up to almost normal level, but frequency of non-preference variants decreased about half of the mutant strain. The observation suggested that the non-preference mutation was accompanied by a recessive lethal gene, presumably a small deficiency.

These findings led the authors to a conclusion that a major gene for the non-preference mutation is accompanied by a recessive lethal gene. If this is correct, in offspring generations of a cross produced between non-preference individuals of this strain and normal ones of other strain hatchability may never exceed 75 % and an incidence of beet feeding larvae may not be higher than 66.6 %. The actual incidence of beet feeding mutants in G₁₀ reached to 50.5 % on an average and the highest batch was 68.8 %. The average hatchability in this generation was 66.1 %, a little lower than the theoretical expectation of 75.0 % (Tazima *et al.*, 1984).

3) Cross experiments between mutant and normal

In the G₆ generation, crossings were made between mutant and normal type of C108 in order to see genetic behaviour of these mutant genes. The results are shown in table II with those reproduced *inter se*.

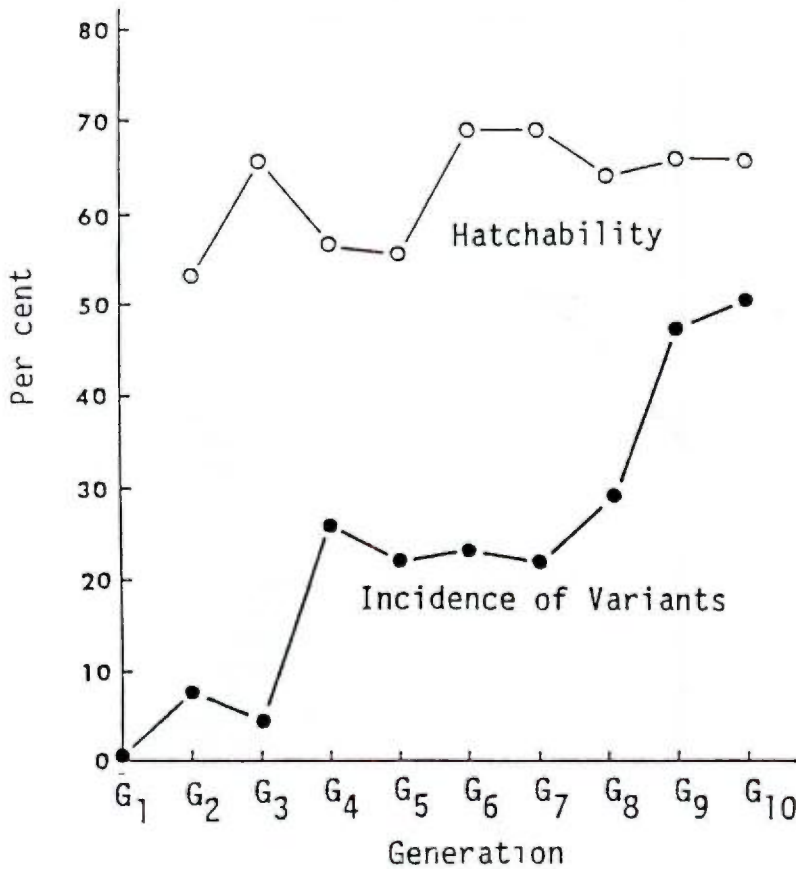


Fig. 1 : Records of selection experiments in *Np* mutation strain towards higher incidence of beet feeding variants.

*Fig. 1 : Compte-rendu des expériences de sélection chez la souche mutante *Np* en vue d'obtenir une incidence plus élevée de variants se nourrissant de betteraves.*

Table II. Non-preference $\times$ normal.Tableau II. Sans préférence $\times$ normal.

Crossing Croisement	Incidence of non-preference Incidence de sans préférence	Hatchability Eclosion
○ sib	18.1 %	69.3 %
● sib	21.3	58.3
○ $\times$ C108	8.2	95.6
C108 $\times$ ●	4.1	90.1

As seen in table II, hatchability recovered immediately after crossing, showing higher than 90 %, but the incidence of mutants decreased down to 1/3 - 1/4, which suggested that the non-preference trait was under the control of a major mutant gene in collaboration with modifier(s).

4) Location of *Np* gene

Coexistence of a recessive lethal gene with the *Np* gene made it possible to search for a linkage group to which *Np* gene belongs. Linkage test using 18 known groups revealed that *Np* (1) belongs to the eleventh group, which is represented by K gene. Recombination value between *Np*(1) and K was found to be 7.26 %. Similar test using *Bu* gene revealed that *Np*(1) is located near *Bu*, but to their right. Since K is given the locus at 23.2 in the revised map, the locus of *Np* falls on 30.5 on the eleventh chromosome (Tazima and Machida, 1959).

The results mentioned above had not been published in a full paper until they were published *en bloc* in 1984 (Tazima *et al.*).

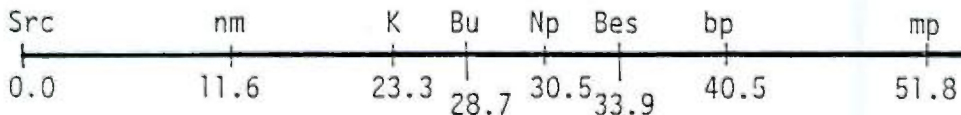


Fig. 2 : Linkage maps of the 11th chromosome group of the silkworm.

Fig. 2 : Carte de liaison du groupe du 11e chromosome du ver à soie.

II. SPONTANEOUS MUTATIONS AFFECTING FOOD SELECTION

Mutations with regard to food selection must have occurred spontaneously like other ones during the long history of the silkworm. If it were so, and transmitted to the offsprings, such mutant could be found out by any means. With this idea, Yokoyama (1970, 1975) examined numerous stock breeds of the silkworm, which had been collected from all over the world and preserved at the National Sericultural Experiment Station. The method he utilized was almost similar to that used by Tazima *et al.* (1984 and Chapter I), except that he used cabbage leaves instead of beet.

Table III. Percentage of detected variants concerning food habit among preserved silkworm breeds (Yokoyama, Expt. 691).

Tableau III. Pourcentage de variants concernant les habitudes alimentaires détectés parmi les souches de vers à soie (Yokoyama, Exp. 691)

Japanese <i>Japonaise</i>		Chinese <i>Chinoise</i>		European <i>Européenne</i>	
Name of breed	% variants	Name of breed	% variants	Name of breed	% variants
<i>Nom des souches</i>	<i>% variants</i>	<i>Nom des souches</i>	<i>% variants</i>	<i>Nom des souches</i>	<i>% variants</i>
Kokin	0 %	C14	0 %	E 20	0 %
Dainyorai	4	C14a	0 %	E 15 abura	0 %
T16	0	Toku C 4	4	E 15 beni	0
T20	0	C19	0	E 18	0
Yukoken	0	C116	0	Y 5	0
Shohaku	4	C17	2	Rosa	0
Matamukashi	6	Sansa-haku	0	E 19	2
Kunitomi	10	B 8 abura	0	E 1	0
Akajuku	0	C 3 ko	0	Bunri-haku	0
Taisho-haku	0	C 22	0		
		C 18	0		
		Shingen abura	0		
		C Sekko	0		
		C 16 shin	0		
Mean	2.4		0.4		0.2
<i>Moyenne</i>					

The results of his first experiment are shown in Table III. As expected, number of such variants were discovered in several breeds. The percentage of variants (fed on cabbage) to the total examined were 2.4 % in Japanese breeds, 0.4 % in Chinese ones and 0.2 % in the European ones. Yokoyama repeated similar experiments. The number of variants detected were 32 individuals in 11 breeds out

of 29 breeds examined in Japanese, and 8 individuals in 3 breeds out of 37 examined in the Chinese ones. The detail is given in Table IV.

Table IV. Percentage of cabbage feeding variants detected in the second experiment of Yokoyama (Expt. 692).

Tableau IV. Pourcentage des variants se nourrissant de chou détectés dans la deuxième expérience de Yokoyama (Exp. 692).

Name of breed <i>Nom des souches</i>	Per cent cabbage feeder * <i>% des vers se nourrissant de chou *</i>	Race <i>Race</i>
Kojiki	6%	Japanese
T 6	4	<i>Japonaise</i>
Awo 95 C	2	"
Aojuku (Ichinomiya)	14	"
Konjiki (Matsu)	20	"
N 120	6	"
N 106	2	"
N 117	2	"
N 104	2	"
Ohaojuku	4	"
N 113	2	"
Kanko	10	Chinese
Kosetsu	2	<i>Chinoise</i>
Shokoabura	4	"

Mean / *Moyenne* 80/14 = 5.7

* 50 individuals were examined per breed / *50 individus par souches ont été examinés.*

1) Selection toward higher incidence of variants

All these detected variants were mixed together and reared on mulberry. 40 of them emerged to moths and laid eggs. In the next spring, 5 batches of these were taken at random and reared in separate batches. Selection was continued toward higher incidence of cabbage feeding variants. The results were clearly positive and reached to ca. 70 % in the fifth generation. The strain was named Sawa-n (Fig. 3).

In the autumn of 1970, part of the strain were subjected to severe selection by feeding them on artificial diet that did not contain even a trace of mulberry leaf powder (Horie *et al.*, 1969). Feeding was started at early fifth instar, after one day fast. The diet was definitely unfavourable and only 5 females and 3 males attained larval maturity. Of them only one pair laid eggs. They were reared in the next spring. The incidence of cabbage feeding variants in this generation was higher than that of parental strain, Sawa-n, and the strain was named Sawa-j. The record of the selection in both strains is illustrated in Fig. 3.

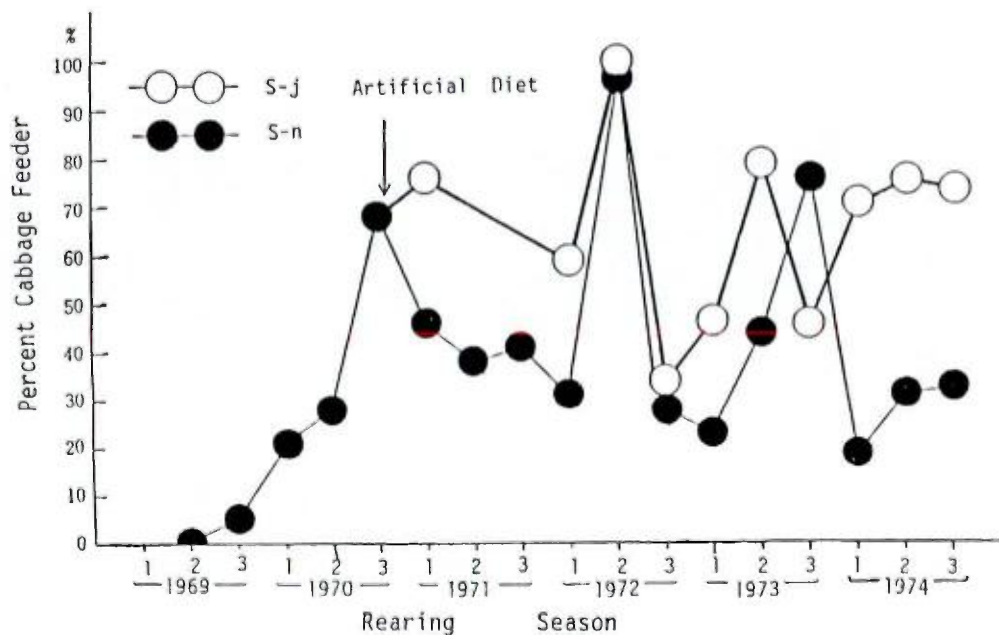


Fig. 3 : Records of selection carried out towards higher incidence of cabbage feeding variants in Sn and Sj strains (Yokoyama, 1975).

Fig. 3 : Détail de la sélection réalisée en vue d'obtenir une incidence plus élevée de variants se nourrissant de chou chez les souches Sn et Sj (Yokoyama, 1975).

2. Genetic characteristics of Sj

As described above the cabbage feeding trait was clearly heritable. The gene(s) responsible for this trait was named *Wfr* (Wide food range). This gene is assumed to have occurred hundreds of generations ago, because it is distributed widely in Japanese indigenous breeds.

The *Wfr* mutant was first discovered by feeding cabbage leaves, but later they were observed to eat several kinds of plant leaves like plum, cherry and persimmon as well as fruit, for instance, apple, persimmon, etc. (Yokoyama & Nakayama, 1974, 1980). To see the mode of inheritance of *Wfr*, Yokoyama (1978) carried out cross experiment between Sawa-j and C124 and Ryukaku. The results are shown in table V.

Table V. Crossing experiment between Sawa-j and other breeds.

Tableau V. Croisements expérimentaux entre Sawa-j et d'autres souches.

Breed or Cross <i>Souche ou croisement</i>	Percent cabbage feeder <i>Pourcentage se nourrissant de chou</i>
Sawa-j	87.6 ± 7.7
C 124	8.6 ± 11.5
Ryukaku	0.7 ± 0.9
Sawa-j × C124	44.0
Recipro.	29.0
Sawa-j × Ryukaku	24.6
Recipro.	12.6

As to the incidence of cabbage feeding individuals F_1 was equal to or lower than mid parent value. Hence, *Wfr* was assumed to be incomplete dominance to the normal.

3. Brief conclusion

Since Sj is free from any deleterious aberrations, the strain could be utilized as an excellent material for breeding purpose.

III. QUANTITATIVE AND QUALITATIVE STUDIES ON MUTATION INDUCTION IN RELATION TO FOOD SELECTION

1. Further experiments on mutation induction

After a long absence from the Silk Science Research Institute, Tazima returned to the institute in 1983 and resumed the work on food habit mutation of the silkworm. His aim was to obtain more promising mutations that could be utilized for breeding strains adaptable to artificial diet. Materials used for induction of new mutation were the Japanese breeds, Aojuku-A and Aojuku-I (Ichinomiya) and the Chinese breeds, Shokei, C-131 and Daizo. These were chosen by taking into consideration the potentiality of modifiers that may affect *Np* gene; i.e., positive in the Japanese and negative in the Chinese ones. Both sexes of these strains were irradiated by X- or gamma-rays at their mid-pupal stage and mated, after emergence, to unirradiated partners of the same strain and eggs were collected.

G₁ larvae were reared on mulberry leaves and examined on their food selection ability (incapability to discriminate beet from mulberry) by feeding them on leaves of common beet or sugar beet in the early third instar. Variants that ate beet leaves were picked up and reared on mulberry leaves again. They were subjected to further check by feeding on beet leaves in the fourth and the

fifth *stadia*. Variants, that were confirmed three times of their abnormality in feeding habit were reared carefully on mulberry and mated with normal partners of the same breed, and transmissibility of the variant trait to the offspring was examined.

The incidence of such variant in G₁ varied markedly with the irradiated strain and the sex as shown in table VI.

Table VI. Frequencies of detected variants in five tested breeds, shown separately for irradiated sex.

Tableau VI. Fréquences des variants détectés chez cinq souches testées selon le sexe irradié.

Name of breed <i>Nom de la souche</i>	Property <i>Propriété</i>	Irradiated parent <i>Parent irradié</i>	
		Female <i>Femelle</i>	Male <i>Mâle</i>
Daizo	C, multivoltine	33/84,858	94/108,325
Aojuku-I	N, bivoltine	10/74,376	12/155,325
Aojuku-A	N, bivoltine	0/101,429	0/190,858
Shokei	C, univoltine	3/124,773	2/148,751
C 131	C, bivoltine	1/33,842	4/48,345

Note : C = Chinese, N = Japanese.

Note : C = Chinoise, N = Japonaise.

Irradiation dose : (female) = 2 and 4 kR, (male) = 3 and 5 kR

Dose d'irradiation (femelle) = 2 et 4 kR, (mâle) = 3 et 5 kR.

Freq. = No. detected variants/No. observed G₁ larvae.

Fréquence = Nb. variants détectés/ Nb. larves G₁ observées.

Some G₁ variants died before they attained maturity and some others were sterile. However, a certain number of variants laid fertilized eggs.

G₂ larvae were tested again of their food selection ability by the same testing procedure as used in G₁. They were reared separately on a batch basis. In some batches beet feeding variants appeared again, but in other batches both the penetrance and the expressivity of variant characteristics were very low. In Aojuku-I variant trait was transmitted at a fairly high frequency from G₁ to G₂. In contrast, transmissibility was very low in Daizo, suggesting that the appeared variants were mostly products of phenocopy. Contrarily, most variants discovered in Aojuku-I were regarded as those due to mutations. A marked difference observed among different breeds in the incidence of variants seemed to indicate the possibility of participation of modifier(s) affecting the expression of mutant gene. Aojuku-I was assumed to have positive modifier(s), whereas Aojuku-A negative ones or nil.

The number of variants appeared in G₁ (left of the arrow) and the number of mutant strains transmitted to the filial generation (right of the arrow) were : Daizo 94→4 ; Aojuku-I 22→8 ; Aojuku-A 0→0 ; Shokei 4→1 and C131 5→0.

2) Characteristics of newly induced mutations

The mutant strains were maintained either by sib-mating or by out-crossing for genetic analyses. So far at least four different kinds of mutations have been isolated.

(a) A-series mutations obtained from Aojuku-I

Among several mutants induced in Aojuku-I breed 8 strains were maintained successfully, and all of them were revealed to be accompanied by lethal genes that manifest their action during embryonic stage. By applying diallele-cross method, complementation test was carried out for six strains with regard to their lethality, which revealed that the six strains did not complement each other. This implies that lethal gene(s) involved in these strains are common to each other. Furthermore, these lethal gene(s) were also found to be identical with that accompanying with *Np* (Chapter I). Hence, they were determined to be the constituents of *Np*-multiple allele. They were represented by the gene symbols of : Np^{a1} , Np^{a2} , Np^{a3} , Np^{a4} , Np^{a11} , Np^{a14} , respectively (Tazima & Ohnuma, 1986a).

(b) S2 mutation discovered from Shokei breed

A mutant strain S2, discovered among the offsprings of irradiated Shokei Breed resembles *Np*, since it has impaired food selection ability and is accompanied by an embryonic lethal. But, it differs from the latter, because it complements the lethality of *Np*. It is neither allelic to *Np* nor belongs to the same linkage group as *Np*. This mutation was represented by the gene symbol of *Nps*.

Genetic analyses revealed that the *Nps* gene belonged to the third linkage group, locating somewhere near lemon locus. In F_1 of a cross between S2 and *lem* a few lemon larvae appeared. Sib-mating of S2 resulted in the decrease in hatchability down to 41-58 %. F_1 between S2 and Shokei showed a marked difference in the incidence of beet feeding larvae depending on the direction of crossing : namely, 90.8 % in the case of S2 female $\times$ Shokei male, whereas it was 47.3 % in the case of the reciprocal. All these observations suggested the association of chromosome aberration with the *Nps* mutation (Tazima & Ohnuma, 1986a).

(c) D1 mutation discovered from Daizo breed

A mutant strain D1, was discovered first as an exceptional female that fed on beet leaves in G_1 of X-irradiated males of Daizo breed (Tazima and Ohnuma, 1987). Among many mutants discovered one female drew our attention, because it exhibited in the next generation extremely imbalance in the sex-ratio among the defective food preference larvae, giving 13 females and 33 males. The strain was maintained *inter se*. In the next generation, sex-ratio of defective food preference variants was reverse: i. e., 134 females vs 15 males. From these observation sex-linkage of this defective food preference mutant gene was assumed, designating it as *Bt* (beet feeder) (Tazima & Ohnuma, 1986).

Bt is dominant to the normal food habit, and requires the collaboration of modifier(s), for the expression of the trait. Both penetrance and expressivity of *Bt* varied markedly depending on an experimental condition. For instance, males heterozygous for *Bt* manifested themselves, in a certain instance, as a substantial number of beet feeding larvae, but in other cases appearance of such phenotypic variants was almost nil. Contrarily, exceptional beet feeders appeared in some cases among the females of normal genotype Z^+/W , even when they lack *Bt* gene. Modifiers contained seemed to vary depending on a strain, breed or race of the silkworm.

Linkage test of *Bt* gene indicated that it is located at a locus of ± 4.6 % from *od* on the Z chromosome on an assumption that the penetrance of *Bt* is 50 %.

(d) D5 mutation, presumably of cytoplasmic

D5 is a non-preference mutant strain which was discovered in G_1 of an irradiated Daizo males crossed with non-irradiated Daizo females. The mutant was discovered first as a beet feeding male and was mated to Shokei female so as to have G_2 eggs hibernated for the maintenance of the strain. G_2 was reared in the spring of 1984. They showed a good hatchability of 98.5 %, but the incidence of beet feeding variants was as low as 3.7 %, comprising 3.4.5 males, 3.4.0 females* and a few 3.0.0 individuals. By mating 3.4.0. female with 3.0.0 male, that appeared in the same batch, G_3 was obtained. In this generation hatchability decreased remarkably, showing only 44.0 %, but the

* 3.4.0. indicates that the larvae fed on beet leaves when tested at the third and the fourth instar. 0.0.0 indicates that the larvae showed negative response when tested at the third, fourth and fifth instar.

frequency of beet feeding larvae increased appreciably (19.6 %). They were maintained by sibmating, and hatchability of this strain remained low.

By continued selection, the incidence of mutants increased gradually, i.e., 3.7 % → 19.6 % → 6.4 % → 37.8 % → 34.7 % → 35.1 % → 31.0 %.

The mutant was regarded to be the product of a change occurred in the cytoplasmic agent(s) from the following reasons.

(1) In the offspring of D5 female × Daizo (normal) male, hatchability was very low, but the incidence of variants was appreciably high.

(2) In the reciprocal cross, Daizo (normal) female × D5 male, hatchability recovered normal, but the incidence of variants was nil.

(3) Similar observation was made even when Daizo males had been substituted by those of other normal strains in the above crosses (Tazima & Ohnuma, 1987).

3. Brief conclusion

Four kinds of mutations have been isolated with regard to food selection. However, none of them seemed to be promising from the viewpoint of practical use.

IV. MODIFIERS OF FOOD SELECTION GENES

1. Relation between major genes and modifiers contained in different mutant strains

In order to see whether modifiers of different non-preference major genes are in common with each other among various strains (breeds), Tazima and Ohnuma (1987) carried out an experiment. Three mutant strains E11 (Np) Np^{a4} , and D1 (Bt) were chosen, which were of different origin. Male moths of those strains were mated to females of three indigenous breeds, Daizo, Shokei and Aojuku-I. Special care was taken for the procedure of crossing; namely, one male of a mutant strain was mated three times successively to females of different indigenous breeds. At least five males were used for the preparation of each cross combination group. The results are shown in Fig.4.

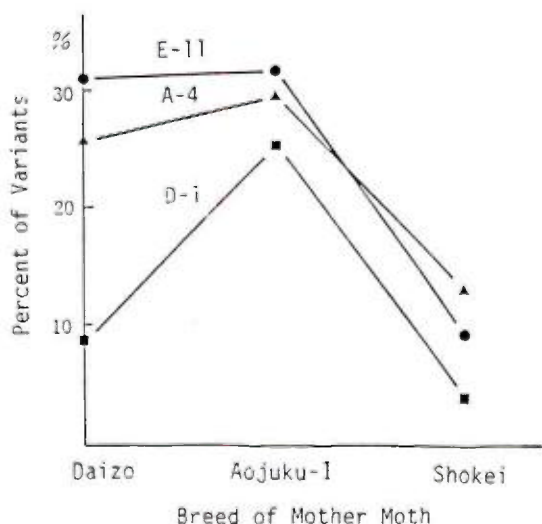


Fig. 4 : Demonstration of possible differences in the potency of modifiers of non-preference genes involved in three indigenous breeds.

Fig. 4 : Démonstration des différences possibles dans le potentiel des modificateurs des gènes sans préférence chez trois races locales.

The frequency of incidence of non-preference individuals in F_1 varied markedly depending on the indigenous breed used as the mother moth, which indicated that the modifiers contained in these indigenous breeds were different quantitatively in decreasing order of Aojuku-I > Daizo > Shokei. The experiments also indicated that modifiers of different major genes, Np , Np^{a4} and Bt , might be similar in nature to each other, because the degree of the modification of the frequency of the incidence was almost in parallel among different mutant strains.

This indicates that modifiers contained in mother moths of different indigenous breeds are similar in quality, but different with regard to their potentiality. Such difference was observed even between individuals of the same strain of Daizo.

2. Responses to artificial diet of various mutant strains

Seven strains, comprising two non-preference mutation strains, E11 and A4, four indigenous breeds of different origin, Aojuku-A, Aojuku-I, Shokei and Daizo, and Sawa-j, selected by Yokoyama, were chosen and their adaptability to artificial diets was compared (Tazima *et al.*, 1988). Two kinds of commercially available diets were used in this experiment. One was K, manufactured by Katakura Co. for hybrid rearing purpose. Another was Y, produced by Yakult Co. for the purpose of parental breed rearing. The main difference between the two was seen in the content of mulberry leaf powder, being higher in Y, say 10-15 % in K and 20-25 % in Y. The results are shown in table VII, in which adaptability is represented by survival.

Table VII. Comparison of survival rates on artificial diet.

Table VII. Comparaison des taux de survie sur un aliment artificiel.

Strain or Breed <i>Souche ou race</i>	Diet K 2nd* <i>Aliment K 2^{ème} âge</i>	Diet Y 5th** <i>Aliment Y 5^{ème} âge</i>
E11(Np)	84.0	92.6
A4(Np^{a4})	94.7	86.5
Aojuku-I	91.8	92.3
Aojuku-A	55.1	92.8
Shokei	87.2	85.7
Daizo	92.9	86.7
Sawa-j	98.1	94.9

* Percent of 2nd instar larvae determined 5 days after hatching / *Pourcentage du 2^{ème} âge larvaire déterminé 5 jours après l'éclosion.*

** Survival up to the 5th stadium / *Survie jusqu'au 4^{ème} âge larvaire.*

As seen from the table, it is clear that some strains, for instance, Aojuku-A did not fit to K diet so well as to Y. This was confirmed by further experiments (Table VIII).

Table VIII. Comparison of adaptability to different kinds of artificial diet between Aojuku-I and Aojuku-A.

Table VIII. Comparaison de l'adaptabilité à différents aliments artificiels entre Aojuku-I et Aojuku-A.

Breed / Race	Aojuku-I		Aojuku-A	
Diet / Aliment	K	Y	K	Y
Survival (%) / % Survie	99.2	94.5	36.7	97.9

The above experiments indicated that an artificial diet of inferior quality tends to exaggerate remarkably the differences in survival among different strains. Similarly, it was anticipated that modifiers with different genetic potentiality could be discriminated if we fed them on diets of poor quality.

3. Feeding experiments on semi-synthetic diets which do not contain mulberry leaf powder

Experiments were pushed forward by Tazima *et al.* (1988) to find out suitable constitution of diet to reveal the differential potentialities of mutant strains. Such a diet should be free from mulberry leaf powder, but nutritive having approximately the same calories as the mulberry when ingested into the larvae. They selected, in this respect, a semi-synthetic diet, proposed by Horie *et al.* (1969), but from which Morine was removed. It was named basic diet. The composition of this diet is shown in table IX.

Table IX. Composition of basic diet used in the experiment, proposed by Horie *et al.*, 1969, slightly modified.

Table IX. Composition de l'aliment de base, proposé par Horie et coll., 1969e, utilisé dans l'expérience et légèrement modifié.

Material Matériel	Contents (g) in dry matter Contenu en matière sèche (g)
Potato starch / Amidon de pomme de terre	100
Sucrose / Sucrose	100
Defatted soy bean powder / Poudre de germe de soja dégraissée	400
Refined soy bean oil / Huile de germe de soja raffinée	30
β -sitosterol / β -sistosterol	5
Ascorbic acid / Acide ascorbique	10
Citric acid / Acide citrique	50
Cellulose powder / Poudre de cellulose	340
Agar / Agar	150
Inorganic salt mixture / Mélange de sels inorganiques	45
Vitamin B complex / Complexe vitamine B	3.8
Sorbic acid / Acide sorbique	4
Antiseptics / Antiseptiques	200 ml
Distilled water / Eau distillée	3500 ml

Preliminary test with basic diet showed that Aojuku-I fed on this diet fairly well, whereas Aojuku-A did not. Then, a series of experiments was carried out, in which both adaptability to basic diet and capacity for food discrimination were examined. Five strains were tested, as shown in table X.

Table X. Tests for adaptability to basic diet and for food selection capacity.

Tableau X. Tests d'adaptabilité à l'aliment de base et à la capacité à sélectionner la nourriture.

Expt. season	883		884	
Strain Souche	Survival* Survie*	% beet feeder*** % mangeur de betterave***	Survival** Survie**	% beet feeder % mangeur betterave
Aojuku-I	53.8 %	0.0 %	72.5 %	0.4 %
Aojuku-A	0.4	0.0	-	-
Sawa-j	62.9	0.9	80.7	58.4
E11(<i>Np</i>)	16.5	69.3	39.3	46.9
A3 (<i>Np</i> ^{a3})	38.0	62.3	63.0	27.3

* Survival up to the 2nd instar / *Survie jusqu'au 2^{ème} âge.*

** Survival up to early 4th instar / *Survie jusqu'au début du 4^{ème} âge.*

*** Beet feeding test was performed at early 4th instar / *Le test de nourrissage avec betterave à été amélioré au 4^{ème} âge.*

It should be noted from the table that strains Aojuku-I and Sawa-j, even though they carried neither *Np* nor *Np*^{a3} genes, fed on basic diet. Far from it, they grew better than *Np* carrying strains.

Remarkable difference on food habit was seen between Aojuku-I and Aojuku-A. As described in Chapter III the two breeds contrasted sharply with regard to the potentiality of the modifiers to *Np* gene. The difference observed on food habit appeared similarly depending upon positive or negative status of modifiers of *Np*. This may imply that modifiers of *Np* itself also control the feeding capacity.

Feeding test on beet indicated that strains that have no *Np* gene were negative to beet test, except Sawa-j in Expt. 884. Further experiment revealed that Sawa-j reared on basic diet during the period from hatching to the fourth instar were able to feed on beet fairly well, but once they tasted mulberry leaf, they hate beet, perhaps due to memory effect. In Expt. 883 Sawa-j was transferred from basic diet to mulberry five days before testing, but in Expt. 884 they had been reared on basic diet until beet test was set about at early fourth instar.

4. Relation between Sawa-j and modifiers to *Np*

Question arises whether the *Wfr* (wide food range) gene, contained in Sawa-j is identical with those known as modifier of *Np* (*Mod-Np*). The answer will be obtained if we can make it clear that *Wfr* enhances the penetrance of *Np*. Experimental data so far obtained are given in table XI.

Table XI. Results of crossing between A3 (Np^{a3}) and Sawa-j.Tableau XI. Résultats du croisement entre A3 (Np^{a3}) et Sawa-j.

Strain or cross <i>Souche ou croisement</i>	Survival on basic diet rearing <i>Survie sur aliment de base</i>	Per cent beet feeding individuals <i>% d'individus se nourrissant de betterave</i>
A3	63.8 %	27.3 %
Sawa-j x A3	64.5	58.2
A3 x Sawa-j	83.6	46.1

It may be clear from the table, that the incidence of beet feeding individuals is higher in F_1 crosses of both direction, which seems to indicate that Wfr of Sawa-j enhances the penetrance (incidence of beet feeding individuals) of Np^{a3} gene. The results were just as expected. However, to reach a definite conclusion genetic data are still insufficient.

V. CONCLUSION

1. Artificial diet rearing

Rearing silkworms with artificial diet was brought into realization in 1960 by Fukuda and Ito independently. Since then, during the past 28 years, a remarkable progress has been achieved in sericulture in Japan. At present about one third of sericultural farmers are practising artificial diet rearing for the production of silk reeling cocoon. The revolution owed mainly to the development in diet preparation.

Improvement was also made on the side of silkworm breeding. But its contribution was not so large as to be able to guess from the fact that the government authorized artificial diet rearing with most hybrid combinations, which were popularly used at that time.

The diets so far used are only for early stage larvae, and are rather expensive, because they contain as a main constituent a fairly high percentage of mulberry leaf powder, say 15-25 %. In order to reduce the cost of the diet several means are being considered to substitute costly constituents with cheaper ones.

This inevitably necessitates genetic improvement of the silkworm's food habit, for instance, insensitive to unfamiliar odor or taste other than mulberry. There are several means to achieve this aim. The most orthodox approach may be to utilize already existing mutations or to induce new mutations artificially. The current state of such attempts is reviewed in the previous chapters of this article.

2. Mutations already in our hand

Mutation on food habit so far known are conveniently grouped into two categories.

(1) Artificially induced mutations

Np and Np^{a1} multiple allele (11th linkage group)

Nps (3rd linkage groupe)

Bt (Sex chromosome)

Cytoplasmic

(2) Mutations of spontaneous origin

Wfr (contained in Sawa-j breed)

Mod- Np (contained in Aojuku-I breed)

Others

Those belonging to category (1) have been induced artificially by radiation. They are all in complete dominance and require modifier(s). Since the method utilized for the detection of mutation was so designed as to find mutations in F_1 generation, it is not strange that mutations so far obtained were all dominant. Sex-linked recessive could also be expected in F_1 and was actually discovered.

Many of those mutants were found to be associated with embryonic lethals, which suggested that food habit mutations had occurred together with deficiency in genetic message. Conversely, this may imply that a complete set of genetic message at corresponding domain is necessary for perfect function in the discrimination of mulberry. During the long course of evolution of the insect, silkworms might have acquired a strategy for correcting errors occurred in the genetic message.

Group (2) consists of mutations occurred spontaneously. Only two breeds have been analyzed so far, but there may be many others not yet analyzed. Both mutants of this group are not accompanied by lethal genes.

Wide food range mutation gene was discovered first as a modifier(s) to *Np*, but later the gene was assumed to control food habit also by itself. Presumably, it functions as an accelerator of appetite. To get a definite conclusion on this point further studies are necessary.

Along with the academic interests mentioned above, efforts to find out more suitable mutations with regard to food habit and/or the synthesis of multi-mutant breeds are eagerly desired for further development of sericultural industry.

REFERENCES

- FUKUDA T., SUTO M., HIGUCHI Y. (1960), Silkworm raising on the artificial food. *J. Seric. Sci., Jpn.*, 29, 1-3.
- HORIE Y., WATANABE K. (1969), Energy requirement of larva of the silkworm, *Bombyx mori* L., reared on mulberry leaves and artificial diet, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 38, 377-385.
- ITO T. and TANAKA M. (1960), Rearing of the silkworm on an artificial diet and the segregation of pentamolters. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 38, 377-385.
- TAZIMA Y., KOBAYASHI Y. (1952), Induction of mutation concerning food habit in the silkworm. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 22, 121.
- TAZIMA Y., MACHIDA I. (1957), Studies on a food preference mutant in the silkworm. VIII. Selection for higher incidence of non-preference individuals and their genetic analysis. *Rept. Nat. Inst. Genet. Jpn.*, 8, 10-11.
- TAZIMA Y., KOBAYASHI T., OZAWA T., MACHIDA I. (1984), Studies on induction and inheritance of non-preference mutation (*Np*) in the silkworm. *Rept. Silk Sci. Res. Inst.*, 32, 7-30.
- TAZIMA Y., OHNUMA A. (1985), Further studies on non-preference mutations in the silkworm. 1. Induction of new mutants and their transmissibility. *Rept. Silk Sci. Res. Inst.*, 33, 1-19.
- TAZIMA Y., OHNUMA A. (1986a), Ditto.. 2. Genetic analyses of mutant strains and their interrelationship. *Ibid.*, 34, 1-16.
- TAZIMA Y., OHNUMA A. (1986b), Ditto.. 3. A new sex-linked mutant that shows defective food preference. *Ibid.*, 34, 1-16.
- TAZIMA Y., OHNUMA A. (1987), Ditto.. 4. A non-preference mutant strain, D5, which is presumably controlled by cytoplasmic factor(s). *Ibid.*, 35, 1-6.
- TAZIMA Y., OHNUMA A., TANAKA Y. (1987), Ditto. 5. Modifiers that affect the expression of non-preference character. *Ibid.*, 35, 7-16.
- OHNUMA A., TAZIMA Y. (1987), Ditto. 6. Determination of the locus of a sex-linked non-preference mutant gene. *Bt., Ibid.*, 35, 17-22.
- TAZIMA Y., OHNUMA A., TANAKA Y. (1988), Ditto. 7. Selective ingestion of artificial diet observed for strains having positive or null modifiers of non-preference mutations. *Ibid.*, 36, 11-16.
- TAZIMA Y., OHNUMA A., TANAKA Y. (1989), Ditto. 8. Characterization of food habit mutations as demonstrated by feeding on synthetic diets. *Ibid.*, 37, 1-12.
- TORII K., MORII K. (1948), Studies on food habit of the silkworm. 2. On the location of sense organ that choose mulberry leaves in the silkworm. *Rept. Silk Sci. Res. Inst.*, 2, 6-12.
- YOKOYAMA T. (1970), Occurrence of silkworms of abnormal feeding habit and silkworm varieties and their reaction to artificial diet. *Rept. Silk Sci. Res. Inst.*, 18, 16-29.

YOKOYAMA T. (1971), Results of the rearing of the silkworm strains of abnormal feeding habit on the artificial diet without mulberry leaf powder as component. Ibid., 19, 12-16.

YOKOYAMA T., MOCHIZUKI S. (1973), On food selection of the silkworm. 6. The feeding behaviour of the silkworm for the apple and a few other fruits. Ibid., 22, 46-50.

YOKOYAMA T., MOCHIZUKI S. (1974), Ditto 9. A few experiments on the feeding behaviour and nutrition of a mutant strain of the silkworm for persimmon, *Diospyros Kaki* L., and a few other fruits. Ibid., 23, 11-22.

YOKOYAMA T. (1975), Ditto 11. The origin and characteristics of Sawa-j, a strain of the silkworm with abnormal feeding behaviour. Ibid., 24, 27-30.

YOKOYAMA T. (1978), Ditto 16. Feeding behaviour of F₁ hybrids. Ibid., 27, 13-17.

YOKOYAMA T., NAKAYAMA M. (1980), Ditto 17. Feeding behaviour of the silkworm, toward the leaf of plum, cherry or persimmon, with the summary of species of food plants of the silkworm. Ibid., 28, 7-18.

CHANGEMENT DES HABITUDES ALIMENTAIRES CHEZ LE VER A SOIE DOMESTIQUE *BOMBYX MORI*

Y. TAZIMA

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, Iikura 1054, Amimachi, Ibarakiken, Japon.

Des expériences ont été faites pour obtenir des mutations concernant les habitudes alimentaires afin d'obtenir des souches bien adaptées à l'alimentation artificielle. Tazima et Kobayashi ont les premiers réussi en 1952 à induire un mutant incapable de distinguer les feuilles de mûriers de celles des autres plantes. Ce mutant est contrôlé par un gène dominant Np en rapport avec des gènes modificateurs. Une autre mutation a été découverte par Yokoyama en 1970 parmi un stock de souches conservées au National Sericultural Experiment Station. Ce caractère est hérité de façon polygénique sans gènes léthaux.

Plus tard, cherchant une induction de mutations plus prometteuse, Tazima a obtenu quatre nouvelles mutations. Dans ses expériences, il a remarqué une différence importante de la fréquence des mutations parmi les souches parentales et attribue cela à la potentialité différentielle des modificateurs présents dans celles-ci. Des expériences complémentaires portant sur l'utilisation d'aliments synthétiques ont permis de confirmer que le ou les modificateur(s) de Np sont semblables au(x) gène(s) Wfr présents chez Sawa-J.

Ces observations nous permettent de penser que nous sommes proches du but.

I. INDUCTION D'UNE MUTATION SUR LA PREFERENCE ALIMENTAIRE PAR RAYON-X

Le ver à soie *Bombyx mori* n'est pas monophage au sens strict, mais, en pratique, on le considère comme tel car il préfère les feuilles de mûrier à celles des autres plantes. Le mécanisme est resté inconnu jusqu'en 1948 lorsque Torri et Morii découvrirent qu'une larve dont on a extirpé les maxilles mange des feuilles de cerisier car elle est incapable de les différencier des feuilles de mûriers.

Encouragé par ces découvertes, l'auteur commence en 1952 une expérience afin d'obtenir des mutations induites par rayons X. Dans sa première expérience, des mâles et des femelles de quelques souches commerciales ont été irradiées au stade nymphale et accouplées avec des "conjointes" non irradiés sitôt après l'émergence. Les doses de rayons X étaient de 6-8 kR. Les larves F₁ ont été observées pour voir si elles se nourrissaient de feuilles de betterave commune (*Beta vulgaris*). La raison pour laquelle des feuilles de betterave ont été choisies pour la sélection s'explique par la facilité à détecter les marques de moisures sur les larges feuilles lisses. Les variants nourris de feuilles de betterave ont été prélevés et élevés sur des feuilles de mûriers. Mais ils furent testés par la suite plusieurs fois en les nourrissant de feuilles de betterave. La fréquence des variants détectés au 3ème âge fut de 11/937,910 (0.001 %), mais un seul papillon mâle a survécu à cause de la toxicité des feuilles de betterave. Le mâle survivant a été accouplé avec une femelle de la même souche non irradiée. La progéniture F₁ s'est avéré avoir des habitudes alimentaires normales.

Au cours de la deuxième expérience, la descendance du variant mâle a été irradiée, la fréquence des variants sans préférence a atteint un taux élevé de 363/198,498 (0.183 %) (Tableau I), mais seulement soixante-quatre d'entre eux ont survécu jusqu'au 5ème âge, trente-et-un ont atteint le stade

de papillon et vingt-trois lots G₂ ont été obtenus par croisements *inter se*. Les lots G₂ ont été élevés séparément, le pourcentage des variants sans préférence fut de 6.9 %, donnant une variation assez large entre les différents lots (1.5-19.2 %). L'apparition de variants à nouveau en G₂ suggère que ceux-ci sont le résultat d'une mutation dominante. Elle fut appelée sans préférence (*Np*) à cause de l'incapacité à discriminer les feuilles de mûriers. La variation étendue observée entre les différents lots suggère que certaines séries de modificateurs peuvent avoir un rapport avec l'expression du caractère du mutant (Tazima et Kobayashi, 1952).

1. Sélection pour une plus grande incidence d'individus sans préférence

La sélection a été menée jusqu'à la 8ème génération pour obtenir une plus grande fréquence d'individus sans préférence. Ceux-ci ont été répartis en trois groupes en fonction de leur expressivité, c'est-à-dire : groupe des variants élevés mangeant des feuilles de betterave aux 3ème, 4ème et 5ème âges et désignés par ●, groupe moyen mangeant des feuilles de betterave aux 3ème et 5ème âges et désignés par ○, et le groupe des variants faibles. Le groupe des variants élevé a été utilisé comme parent pour les sélections suivantes. L'incidence baisse jusqu'à 3.3 % en G₃ mais remonte remarquablement chez G₄ atteignant 25,9 % et on conserve ce taux jusqu'à la génération G₇ (Fig. 1) (Tazima et Machida, 1957).

2. Gène léthal

Il a été constaté au même moment que le pourcentage d'éclosion de la souche mutante ne dépasse pas 75 %, même plusieurs générations après l'irradiation. Lorsque les mutants sont croisés avec des individus normaux de la souche C₁₀₈, le pourcentage d'éclosion recouvre son taux normal, mais la fréquence des variants sans préférence décroît de moitié par rapport à la souche mutante. Cette observation suggère que la mutation sans préférence est accompagnée par un gène léthal récessif, sans doute une petite déficience.

Ces résultats ont permis aux auteurs de conclure qu'un gène majeur pour la mutation sans préférence est accompagné par un gène léthal récessif. Si cela est vrai, dans la descendance d'un croisement entre les individus sans préférence de cette souche et des individus normaux d'une autre souche, le pourcentage d'éclosion ne doit pas dépasser 75 % et l'incidence des larves capables de manger des feuilles de betterave ne doit pas être supérieure à 66,6 %. L'incidence réelle des mutants se nourrissant de feuilles de betterave dans la génération G₁₀ est de 50,5 % en moyenne et le lot le plus élevé atteint 68,8 %. La moyenne du pourcentage d'éclosion dans cette génération est de 66,1 %, taux un peu inférieur à la prévision théorique de 75,0 % (Tazima et coll., 1984).

3. Essais de croisements entre des mutants et une souche normale

Dans la génération G₆, des croisements ont été effectués entre des mutants et la souche normale C₁₀₈ afin d'étudier le comportement des gènes de ces mutants. Les résultats sont donnés dans le tableau II, avec ceux des croisements homologues. Comme le montre ce tableau, le pourcentage d'éclosion obtenu après croisement dépasse de 90 %, mais l'incidence des mutants décroît de 1/3-1/4, ce qui indique que le caractère sans préférence dépend d'un gène mutant majeur lié à un ou des modificateur(s).

4. Localisation du gène *Np*

La présence d'un gène léthal récessif et d'un gène *Np* permet la recherche d'un groupe de liaison auquel appartient le gène *Np*. Le test de liaison utilisant les 18 groupes connus montre que *Np*(1) appartient au 11ème groupe, représenté par le gène K. La fréquence de recombinaison entre *Np*(1) et K est de 7,26 %. Des tests similaires utilisant le gène Bu montre que *Np*(1) se trouve près de Bu, mais à sa droite. Puisque le locus de K est à 23,2 dans la carte révisée, le locus de *Np* se situe à 30,5 sur le 11ème chromosome (Tazima et Machida, 1959). Les résultats ci-dessous mentionnés n'ont pas été publiés dans un article complet avant d'être publiés en bloc en 1984 (Tazima et coll.).

II. MUTATIONS SPONTANÉES AFFECTANT LA SÉLECTION DE LA NOURRITURE

Les mutations concernant la sélection de la nourriture ont apparu spontanément, comme d'autres, tout au long de la longue histoire du ver à soie. Si c'est le cas et que ces mutations ont été transmises aux générations suivantes, les mutants peuvent être détectés par tout moyen. En partant de cette idée, Yokoyama (1970, 1975) a examiné un grand nombre de souches de vers à soie, provenant du monde entier et conservées au National Sericultural Experiment Station. La méthode utilisée par Yokoyama est semblable à celle utilisée par Tazima et coll. (1984 et chapitre I), mais elle utilise des feuilles de chou au lieu de feuilles de betterave. Les résultats de sa première expérience sont donnés dans le tableau III. Comme prévu, un grand nombre de ces variants a été découvert dans diverses souches. Le pourcentage de variants (nourris sur des feuilles de choux) sur le total examiné fut de 2,4 % chez les souches japonaises, de 0,4 % chez les souches chinoises et de 0,2 % chez les souches européennes.

Yokoyama a renouvelé les expériences. Le nombre de variants détectés fut de 32 individus dans 11 souches sur 29 souches japonaises examinées et de 8 individus dans 3 souches sur 37 souches chinoises examinées. Le détail est donné dans le tableau IV.

1. Sélection en vue d'une fréquence plus élevée de variants

Tous les variants détectés ont été regroupés et élevés sur des mûriers. Quarante d'entre eux sont devenus des papillons et ont pondu des oeufs. Dans la nouvelle descendance, cinq de ces lots ont été prélevés au hasard et élevés séparément. La sélection s'est poursuivie afin d'obtenir l'incidence la plus élevée de variants nourris avec des feuilles de chou. Les résultats furent tout à fait positifs et atteignirent 70 % à la 5ème génération. La souche obtenue a été appelée Sawa-n (Fig. 3).

En automne 1970, une partie de la souche a été soumise à une sélection stricte et n'a été nourrie que par un régime artificiel ne contenant pas la moindre trace de poudre de feuilles de mûrier (Horie et coll., 1969). Le nourrissage a commencé au 5ème âge après un jour de jeûne. Ce régime fut défavorable : seulement 5 femelles et 3 mâles arrivèrent à maturité et une seule femelle donna des oeufs. Ceux-ci furent élevés le printemps suivant. L'incidence des variants nourris avec des feuilles de chou dans cette génération était plus élevée que chez la souche parentale Sawa-n et la souche fut appelée Sawa-j. Les résultats de cette sélection sur les deux souches sont donnés dans la figure 3.

2. Caractéristiques génétiques de Sj

Comme nous l'avons signalé ci-dessus, le caractère alimentation avec des feuilles de chou est héréditaire. Le(s) gène(s) responsable(s) de ce caractère est appelé *Wfr* (gamme étendue d'aliments). Ce gène est apparu depuis des centaines de générations, car il est largement répandu dans les races japonaises locales. Le mutant *Wfr* a d'abord été découvert par alimentation sur feuilles de betterave, mais plus tard on a observé que celui-ci mangeait également toutes sortes de feuilles telles que les feuilles de prunier, des feuilles de cerisier et de kaki ainsi que des fruits comme, par exemple, des pommes, des kaki, etc. (Yokoyama et Nakayama, 1974 ; 1980). Afin de connaître le mode de transmission héréditaire de *Wfr*, Yokoyama (1978) a réalisé des croisements entre Sawa-j et les souches C₁₂₄ et Ryukaku. Les résultats sont donnés dans le tableau V.

En ce qui concerne l'incidence des individus mangeant des feuilles de chou, l'incidence en F₁ est égale ou plus faible que la valeur des parents moyens. On peut donc affirmer que *Wfr* présente une dominance incomplète sur le gène normal.

3. Conclusion brève

Puisque Sj est exempt de toute aberration nuisible, cette souche représente un matériel excellent pour l'élevage.

III. ETUDES QUANTITATIVES ET QUALITATIVES SUR L'INDUCTION DE MUTATIONS EN RAPPORT AVEC LA SELECTION DE LA NOURRITURE

1. Expériences supplémentaires sur l'induction de mutations

Après une longue absence du Silk Science Research Institute, Tazima revint en 1983 et reprit son travail sur les mutations concernant les habitudes alimentaires du ver à soie. Son but était d'obtenir des mutations plus intéressantes qui pourraient être utilisées pour l'élevage de souches capables de s'adapter à des régimes artificiels. Les matériels utilisés pour l'induction de nouvelles mutations furent les souches japonaises Aojuku-A et Aojuku-I (Ichinomiya) et les souches chinoises Shokei, C-131 et Daizo. Celles-ci ont été sélectionnées en prenant en considération la potentialité des modificateurs qui pourraient affecter le gène *Np* c'est-à-dire positive dans les souches japonaises et négative dans les souches chinoises. Les deux sexes de ces souches ont été irradiés aux rayons-X ou gamma au stade nymphal moyen et accouplés après émergence avec des conjoints non irradiés de la même souche. Les oeufs ont ensuite été recueillis.

Les larves G1 ont été élevées avec des feuilles de mûrier et leur capacité à sélectionner la nourriture a été examinée (incapacité à distinguer des feuilles de betterave des feuilles de mûrier) en les nourrissant au 3ème âge avec des feuilles de betterave ou de betterave à sucre. Les variants mangeant des feuilles de betterave ont été levés et nourris à nouveau avec des feuilles de mûrier. Ceux-ci ont été soumis à d'autres essais et nourris à nouveau avec des feuilles de betterave aux 4ème et 5ème âges. Les variants ayant montré trois fois une habitude alimentaire anormale ont alors été nourris de feuilles de mûrier et accouplés avec des "conjoints" normaux de la même souche, le caractère transmissible du variant a alors été examiné chez les descendants.

L'incidence d'un tel variant varie considérablement en G1 en fonction de la souche irradiée et du sexe comme le montre le tableau VI. Certains variants en G1 moururent avant d'atteindre la maturité, d'autres furent stériles. Néanmoins un certain nombre de variants a donné des oeufs fertiles.

Les larves G2 ont été testées à nouveau pour leur capacité à sélectionner la nourriture en utilisant le même procédé que pour G1. Elles ont été élevées séparément en lots. Dans certains lots, des variants mangeant les feuilles de chou sont réapparus, mais, dans d'autres lots, la pénétrance et l'expressivité des caractéristiques du variant furent très faibles. Chez Aojuku-I, le caractère variant est transmis avec une fréquence élevée de G1 à G2. Au contraire, la transmission est faible chez la souche Daizo, suggérant que les variants apparus furent, pour un grand nombre, des produits de phénocopies. A l'inverse, plusieurs variants découverts dans la souche Aojuku-I furent considérés comme provenant de mutations. Des différences marquées observées dans l'incidence des variants parmi les différentes souches semblent prouver que les modificateurs ont une influence sur l'expression du gène mutant. On admet qu'Aojuku-I possède des modificateurs positifs alors qu'Aojuku-A possède des modificateurs négatifs ou nuls.

Le nombre de variants apparus en G1 (à gauche de la ligne) et le nombre de souches mutantes transmises à la génération suivante (à droite de la ligne) est : Daizo 94 → 4, Aojuku-I 22 → 8, Aojuku-A 0 → 0, Shokei 4 → 1 et C-131 5 → 0.

2. Caractéristiques des mutations nouvellement induites

Les souches mutantes ont été maintenues soit par accouplement frères-sœurs soit par croisements pour des analyses génétiques. Au moins quatre types de mutations différents ont été isolés.

(a) Mutations de série A obtenues avec la souche Aojuku-I

Parmi plusieurs mutants induits chez la souche Aojuku-I, huit souches ont pu être maintenues et toutes possédaient des gènes léthaux qui manifestaient leur action lors du développement embryonnaire. A l'aide de la méthode de croisement diallétique, des tests de complémentation en rapport avec la léthalité ont été réalisés sur six souches. Ces tests ont montré que ces souches se complètent les unes des autres. On peut donc, par déduction, dire que les gènes léthaux présents dans ces souches sont communs. De plus, on a trouvé que ces gènes léthaux sont identiques à ceux

qui accompagnent *Np* (Chapitre I.), et reconnus comme étant les constituants de l'allèle multiple *Np*. Ils sont représentés par les symboles Np^{a1} , Np^{a2} , Np^{a3} , Np^{a4} , Np^{a11} , Np^{a14} , respectivement (Tazima et Ohnuma, 1986a).

(b) Mutation S2 découverte dans la souche Shokei

Une souche mutante S2, découverte parmi les descendants de la souche irradiée Shokei, ressemble à *Np* puisqu'elle présente une diminution de la capacité à sélectionner la nourriture et est accompagnée d'un gène léthal embryonnaire. Mais elle diffère de cette dernière par le fait qu'elle compense la létalité de *Np*. Elle n'est pas allélique de *Np* et n'appartient pas non plus au même groupe de liaison. Cette mutation est représentée par le symbole *Nps*.

Des analyses génétiques ont montrées que le gène *Nps* appartient au 3ème groupe et se trouve localisé près du locus *lemon*. En F1 du croisement entre S2 et *lem*, quelques larves *lemon* apparaissent. L'accouplement des S2 entre eux entraîne une diminution du taux d'éclosion jusqu'à 41-58 %. Il existe une différence marquée chez les F1 provenant du croisement entre S2 et Shokei en ce qui concerne l'incidence des larves se nourrissant de feuilles de betterave dépendant de l'orientation du croisement, à savoir : 90,8 % dans le cas des femelles S2 × mâles Shokei, et 47,3 % dans le cas réciproque. Ces observations semblent indiquer qu'il existe une association entre une aberration chromosomique et la mutation *Np* (Tazima & Ohnuma, 1986a).

(c) Mutation D1 découvert chez la race Daizo

On a tout d'abord découvert une souche mutante D1 avec une seule femelle se nourrissant de feuilles de betterave en G1 d'un élevage de Daizo après irradiation (Tazima & Ohnuma, 1987). Parmi de nombreux mutants, une femelle a attiré notre attention car elle s'est caractérisée à la génération suivante par un déséquilibre important du *sex ratio*, dans une proportion de 13 femelles pour 33 mâles, à l'intérieur du groupe larvaire présentant des défauts de préférence alimentaire. On a conservé la souche *inter se*. A la génération suivante, le *sex ratio* chez les variants présentant des défauts de préférence alimentaire était inversé : 134 femelles pour 15 mâles. A partir de ces observations, on a établi la liaison au sexe de ce gène mutant de défaut de préférence alimentaire qu'on a appelé *Bt* (mangeur de betterave) (Tazima & Ohnuma, 1986).

Bt est dominant sur le gène d'habitude alimentaire et demande la coopération de modificateur(s) pour exprimer le caractère. Tant la pénétrance que l'expressivité de *Bt* varient de manière significative suivant les conditions expérimentales. Par exemple, un nombre important de larves se nourrissant de betteraves s'est manifesté chez les mâles hétérozygotes pour *Bt*, mais dans d'autres cas, l'apparition de tels variants phénotypiques a été pratiquement nulle. Au contraire, des mangeurs de betterave sont apparus exceptionnellement, dans certains cas, chez les femelles de génotype normal Z^+/W , même lorsqu'elles n'ont pas le gène *Bt*. Le contenu en modificateurs semble varier suivant la souche ou la race du ver à soie.

Le test de liaison du gène *Bt* indique qu'il se situe à un locus situé à $\pm 4,6$ % de *od* sur le chromosome Z si l'on part du principe que la pénétrance de *Bt* est de 50 %.

(d) Mutation D5, probablement cytoplasmique

D5 est une souche mutante sans préférence qui a été découverte chez les animaux G1 d'un croisement de mâles Daizo irradiés et de femelles Daizo non-irradiée. Le premier mutant observé était un mâle se nourrissant de feuilles de betteraves qui a été accouplé à une femelle Shokei pour obtenir des oeufs G2 hibernant pour conserver cette souche. La génération G2 a été élevée au printemps 1984. Le taux d'éclosion a atteint 98,5 %, mais l'incidence des variants se nourrissant de betterave fut de 3,7 % seulement, comprenant un mâle 3.4.5, des femelles 3.4.0* et quelques individus 3.0.0.

En accouplant une femelle 3.4.0 avec un mâle 3.0.0 apparu dans le même lot, on a pu obtenir une génération G3. Chez cette génération, le taux d'éclosion diminue nettement jusqu'à 44,0 %, mais le nombre de larves se nourrissant de feuilles de betterave augmente de manière substantielle (19,6 %). Elles furent conservées par accouplement frère-soeur et leur taux d'éclosion reste faible.

* 3.4.0 représente les larves nourries de feuilles de betterave lors du test aux 3ème et 4ème âges. 0.0.0. indique les larves répondant négativement lors du test aux 3ème et 4ème âges.

La sélection continue a permis d'augmenter graduellement l'incidence des mutants, c'est-à-dire : 3,7 % → 19,6 % → 6,4 % → 37,8 % → 34,7 % → 35,1 % → 31,0 %.

On pense que le mutant est le produit d'un changement survenu chez un ou des agent(s) cytoplasmique(s) pour les raisons suivantes :

(1) chez les descendants du croisement femelles D5 × mâles Daizo (normaux), le taux d'éclosion est très faible, mais l'incidence des variants, assez élevée.

(2) Dans le croisement réciproque femelles Daizo (normales) × mâles D5, le taux d'éclosion revient à la normale, mais l'incidence des variants est nulle.

(3) On fait une observation similaire lorsque les mâles Daizo sont remplacés par ceux d'autres souches normales dans les croisements précités (Tazima & Ohnuma, 1987).

3. Conclusion brève

Quatre sortes de mutations ont été isolées en ce qui concerne la sélection alimentaire. Cependant, aucune n'a semblé intéressante du point de vue pratique.

IV. MODIFICATEURS DES GENES DE SELECTION ALIMENTAIRE

1. Relation entre les gènes principaux et les modificateurs contenus dans diverses souches mutantes

Afin de déterminer si les modificateurs des principaux gènes de non-préférence sont communs à plusieurs souches (races), Tazima et Ohnuma (1987) ont réalisé une expérience dans laquelle trois souches mutantes d'origine différente E11 (*Np*), *Np*^{a4} et D1 (*Bt*) ont été sélectionnées. Les papillons mâles de ces souches ont été accouplés aux femelles de trois races locales : Daizo, Shokei et Aojuku-I. Le croisement a été fait avec un soin particulier : ainsi, un mâle d'une souche mutante a été accouplé trois fois successivement à des femelles de différentes races locales. Au moins cinq mâles ont été utilisés pour la préparation de chaque groupe de combinaison. Les résultats sont donnés dans la figure 4.

En F₁, la fréquence des individus sans préférence varie de manière significative suivant la race locale utilisée comme mère, ce qui indique que les modificateurs contenus dans ces races sont différents quantitativement, dans l'ordre décroissant Aojuku-I > Daizo > Shokei.

Les expériences montrent également que les modificateurs des divers gènes principaux (*Np*, *Np*^{a4} et *Bt*) sont peut-être semblables de part leur nature car le degré de modification de la fréquence d'incidence est presque parallèle entre différentes souches mutantes.

Cela indique que les modificateurs contenus dans les papillons mères de diverses races locales sont de qualité similaire, mais diffèrent du point de vue de leur potentialité. On observe ce type de différence même chez les individus appartenant tous à la souche Daizo.

2. Réponse à l'alimentation artificielle de diverses souches mutantes

Sept souches, comprenant deux souches mutantes sans préférence E11 et A4, quatre races locales d'origines différentes Aojuku-A, Aojuku-I, Shokei et Daizo et Sawa-j, sélectionnées par Yokoyama, ont été comparées pour leur adaptabilité à l'alimentation artificielle (Tazima et coll., 1988). Deux aliments disponibles dans le commerce ont été étudiés dans cette expérience. Le premier, K, fabriqué par Katura Co., est utilisé pour élever des hybrides ; le deuxième, Y, produit par Yakult Co., est utilisé pour l'élevage de la race parentale. La principale différence entre les deux aliments provient du contenu en poudre de feuilles de mûrier (plus élevé chez Y ; environ de 15 à 25 % chez K et de 20 à 25 % chez Y). Les résultats sont donnés dans le tableau VII, dans lequel l'adaptabilité est indiquée par le taux de survie.

Comme le montre ce tableau, certaines souches, telles Aokuku-A, sont mieux adaptées à l'aliment Y qu'à l'aliment K. Ceci a été confirmé par d'autres expériences (tableau VIII).

Les expériences détaillées dans ce tableau montrent qu'un aliment artificiel de qualité médiocre tend à renforcer les différences du taux de survie entre les souches. De même, comme on s'y attendait, les modificateurs avec une potentialité génétique différente peuvent être discriminés si les animaux sont nourris sur un aliment de qualité médiocre.

3. Expériences de nourrissage à base d'aliments semi-synthétiques ne contenant pas de poudre de feuilles de mûrier

Des expériences furent conduites par Tazima et coll. (1988) pour établir une composition d'aliments mettant en évidence les différences potentielles des souches mutantes. Un tel régime devait être exempt de poudre de feuilles de mûrier, mais devait avoir la même quantité de calories que le mûrier ingéré par les larves. A cet effet, ils ont sélectionné un aliment semi-synthétique, proposé par Horie et coll. (1969), duquel on a toutefois enlevé la Morine. On a appelé ce aliment, l'aliment de base. Sa composition est montrée dans le tableau IX.

Un test préliminaire avec l'aliment de base a montré qu'Aojuku-I s'y adapte assez bien, mais pas Aojuku-A. Une série d'expériences a ensuite été menée pour examiner et l'adaptabilité au régime de base et la capacité à choisir la nourriture. Cinq souches ont été testées (Tableau X).

Ce tableau montre que les souches Aojuku-I et Sawa-j, bien qu'elles ne soient porteuses ni du gène *Np* ni du gène *Np*^{a3}, acceptent le régime de base. Elles se sont même révélées meilleures que les souches portant le gène *Np*.

Une différence remarquable dans l'habitude alimentaire a été notée entre Aojuku-I et Aojuku-A: comme il est décrit au chapitre III, les deux races contrastent nettement en ce qui concerne la potentialité des modificateurs du gène *Np*. Il en va de même pour la différence observée dans l'habitude alimentaire suivant le statut positif ou négatif de *Np*. Ceci pourrait impliquer que les modificateurs de *Np* lui-même contrôlent la capacité alimentaire.

Le test de nourrissage sur les feuilles de betterave indique que les souches ne contenant pas le gène *Np* donnent une réponse négative, sauf Sawa-j dans l'expérience 884. D'autres expériences ont révélé que les larves de Sawa-j, nourries avec l'aliment de base pendant la période allant de l'éclosion au 4ème âge, ont une assez bonne capacité d'adaptation à la betterave, mais qu'une fois qu'elles ont goûté les feuilles de mûrier, elles ne supportent plus la betterave, peut-être en raison de l'effet de mémoire. Dans l'expérience 883, les larves de Sawa-j passent de l'aliment de base au mûrier cinq jours avant le test, mais dans l'expérience 884, elles sont nourries avec l'aliment de base jusqu'au test de la betterave, au début du quatrième âge.

4. Relation entre Sawa-j et les modificateurs de *Np*

La question se pose de savoir si le gène *Wfr* (gamme étendue d'aliments) contenu dans Sawa-j est identique aux modificateurs de *Np* (*Mod-Np*). On obtiendra probablement la réponse si l'on peut prouver que *Wfr* renforce la pénétrance de *Np*. Les données expérimentales obtenues jusqu'à présent sont détaillées au tableau XI.

Ce tableau montre clairement que l'incidence des individus se nourrissant de feuilles de betterave est plus élevée chez les croisements F₁ dans les deux sens, ce qui semble indiquer que *Wfr* chez Sawa-j renforce la pénétrance (incidence des individus se nourrissant de betterave) du gène *Np*^{a3}. Les résultats sont conformes à ce qui avait été prévu. Cependant, les observations sont encore insuffisantes pour tirer une conclusion définitive.

V. CONCLUSION

1. Elevage avec l'aliment artificiel

L'élevage des vers à soie avec l'aliment artificiel a été réalisé en 1960 par Fukuda et Ito séparément. Depuis, au cours des 28 dernières années, des progrès remarquables ont été accomplis dans la sériciculture japonaise. Actuellement, environ un tiers des exploitants séricicoles utilisent l'aliment artificiel dans la production des cocons. Cette révolution est principalement due au développement de la préparation de l'aliment.

Des améliorations ont été également apportées à l'élevage des vers à soie, dans une moindre mesure cependant, car le gouvernement a autorisé l'élevage par alimentation artificielle pour la plupart des combinaisons hybrides qui étaient couramment utilisées à cette époque.

Les aliments utilisés jusqu'à présent sont surtout destinés aux jeunes larves, mais sont plutôt chers, à cause du pourcentage assez élevé de poudre de feuilles de mûrier, environ 15 à 25 %, qui en est le principal composant.

Afin de réduire le coût de l'aliment, plusieurs solutions sont envisagées pour remplacer les composants chers par des composants meilleur marché. Ceci demande, bien entendu, une amélioration génétique des habitudes alimentaires du ver à soie normalement insensible aux odeurs et aux goûts autres que ceux du mûrier. Il y a plusieurs façons d'y parvenir. L'approche la plus logique peut être d'utiliser les mutants déjà existants ou d'induire de nouvelles mutations de manière artificielle. L'état des recherches dans ce domaine est décrit dans cet article.

2. Mutations déjà connues

Les mutations concernant les habitudes alimentaires connues jusqu'à présent sont réparties en deux catégories :

(1) Mutations induites artificiellement :

Np et *Np*^{a1} à allèles multiples (11ème groupe de liaison)

Nps (3ème groupe de liaison)

Bt (chromosome sexuel)

Cytoplasmiques

(2) Mutations d'origine spontanée :

Wfr (contenue dans la souche Sawa-j)

Mod-Np (contenue dans la souche Aojuku-I)

Autres

Celles qui appartiennent à la première catégorie ont été induites artificiellement par irradiation. Elles sont toutes dominantes et nécessitent un ou des modificateur(s). Puisque la méthode utilisée pour la détection des mutations a été conçue pour trouver des mutants à la génération F₁, il n'est pas étonnant que les mutations obtenues jusqu'à maintenant soient toutes dominantes. On pensait qu'il existait des agents récessifs liés au sexe chez F₁, et on en a effectivement découvert.

On a découvert que beaucoup de ces mutants étaient associés aux gènes léthaux embryonnaires, ce qui suggère que les mutations d'habitudes alimentaires ont lieu en même temps qu'une déficience du message génétique. Réciproquement, ceci pourrait impliquer que l'ensemble du message génétique dans un domaine particulier est nécessaire pour permettre la parfaite discrimination du mûrier. Tout au cours de la longue évolution de l'insecte, il se pourrait que le ver à soie ait acquis une capacité à corriger les erreurs du message génétique.

Le groupe (2) est composé de mutations survenues spontanément. On a analysé seulement deux souches jusqu'à maintenant, mais il pourrait en exister d'autres qui ne sont pas encore connues. Aucun des deux mutants de cette catégorie ne possède de gène léthal.

La mutation "gamme étendue d'aliments" est apparue pour la première fois sous la forme d'un modificateur de *Np*, mais plus tard on a admis que le gène contrôlait les habitudes alimentaires par lui-même. Il se peut qu'il agisse comme un accélérateur de l'appétit. Pour obtenir des conclusions définitives sur ce point, d'autres études sont nécessaires.

En plus des intérêts académiques mentionnés plus haut, il est nécessaire de faire des efforts pour trouver des mutations mieux adaptées en ce qui concerne les habitudes alimentaires et/ou produire des souches multimutantes si l'on veut améliorer l'industrie séricicole.

STUDIES ON TISSUE SOMATIC INDICES (TSI) OF SILKGAND AND GONADS OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., DURING FIFTH INSTAR

K. VENKATA RAMI REDDY & K.V. BENCHAMIN

Silkworm Physiology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute,
Srirampuram, Mysore - 570 008, India.

*Tissue growth rate pattern was studied for different popular silkworm breeds/hybrids, viz., KA, NB₄D₂, NB₇, NB₁₈, PCN, HM, PM, NB₁₈ × NB₇ and PM × NB₁₈ in V instar. During the course of larval maturation two distinct peaks in the growth were recorded in larval body and silk gland weights. The first and second peaks of silk gland growth were recorded on 3rd and 6th day, whereas similar peaks for larval body weight were noticed on 4th and 6th day. The silk gland tissue somatic index was parallel with the silk gland weight changes during development in all the races. However, no such bimodal peak periods were observed in gonad weights. The testicular development was faster in multivoltine than in bivoltine races. The ovarian growth rate was faster than the testicular development. The possible correlation of tissue somatic index to silk productivity in various breeds/hybrids of silkworm, *Bombyx mori*, is discussed.*

Keywords : Silkworm, *Bombyx mori*, bivoltine and multivoltine races, silk gland, gonads, tissue somatic indices.

INTRODUCTION

In silkworm, *Bombyx mori*, the larval growth is species specific and the quantum of growth in each instar is influenced by the robustness of the breeds used (Gabriel and Rapusas, 1976) and the conditions under which the larvae develop (Ueda *et al.*, 1969, 1971 ; Ueda, 1982 ; Krishnaswamy *et al.*, 1973). The larval growth in insects is marked by changes in the body form and different parts of the body grow at different rates and particularly in *Bombyx mori*, the silk gland development in the final instar is remarkable. The rate of growth in the larval weight of an insect is slow at the beginning of each instar, fast at the middle period and again slow towards the end of the instar (Yagi, 1926 ; Durte, 1938 ; Buxton, 1938 ; Davey, 1955 ; Slama, 1957 ; Church and Robertson, 1966 ; Poonija, 1978). Though, several workers have published the data on growth measurements with special reference to width of the head capsule in different insect species (Shafer, 1923 ; Brody, 1927 ; Miles, 1931 ; Hill and Goldsworthy, 1968 ; Hill *et al.*, 1968 ; Mohan Rao and Tonapi, 1970 ; Prasad and Bhattacharya, 1980 ; Williams, 1980 ; Sidhu and Misra, 1980 ; Joshi, 1987), there is no report on the daily growth rate pattern of various tissues against larval body weight in different silkworm races. It is known that, in silkworm, the leaf requirement during fifth instar alone is around 85 % of the total. During the same instar 78.5 %, 80.0 % and 97.5 % increases are reported in body size, body weight and silk gland weight respectively (Tanaka, 1964). Hence the restriction of the present study to fifth instar, aimed to investigate the racial differences in tissue somatic indices of silk gland and gonads of silkworm, *Bombyx mori*.

MATERIALS AND METHODS

Material

Five bivoltine (KA, NB₄D₂, NB₇, NB₁₈ and PCN), three multivoltine races (HM, MY₁ and PM) and two hybrids (NB₁₈ × NB₇ and PM × NB₁₈) of silkworm, evolved and popularised by CSR & TI - Mysore, India - were used as the experimental material in the present study. Two layings of each breed/hybrid were brushed and the larvae were reared on Kanva-2 mulberry variety following standard conditions of 70 ± 2 % RH and 12:12 dark:light photoperiodic regime at $25.0 \pm 1^\circ\text{C}$ (Krishnaswami *et al.*, 1973).

Methods

Freshly moulted, healthy final instar larvae were used to determine the initial body, silk gland and gonad weight and this age was considered as day "0". From each population, a sub-sample of six larvae were taken and sacrificed daily at 24 hrs interval and the tissues such as silk gland (SG), testes and ovaries were carefully dissected out in cold condition (4°C) with minimal mechanical stress or injury. The adhering blood stain and damp was blotted out and the fresh weight of each tissue against body was recorded.

Determination of growth rate curves of body and silk gland

The larval body and SG weight were recorded every day at 24 hrs interval and the daily weight increments were recorded by subtracting the weights from their respective previous day weights. The values obtained at different days were plotted on graphs for bivoltine and multivoltine races separately against larval age (Fig. 1-4).

The tissue somatic index (TSI) was determined by taking the total weight of the tissue and total body weight of the larvae and calculated by using the following formula,

$$\frac{\text{Weight of the tissue}}{\text{Weight of the larva}} \times 100$$

The determined TSI values of silk gland and gonads are referred hereafter as silk gland tissues somatic index (SGTSI) and gonosomatic index (GSI). The SGTSI values were computed graphically as growth rate curves for bivoltine and multivoltine races separately (Figs. 5 & 6).

RESULTS AND DISCUSSION

The data presented in tables I-III and figures 1-6 reveal the extent of changes in the weights of larval body, SG, gonad and tissue somatic indices (SGTSI and GSI) in different silkworm breeds/hybrids during fifth instar. The daily weight increments of body silk gland and net SGTSI values are represented graphically.

The weights of larval body, SG testis and ovary were increased during development in V instar. The increased weights of these tissues during normal course of larval maturation can be possible in the presence of active accumulation of organic constituents viz. , proteins, carbohydrates, lipids and nucleic acids. This observation is in agreement with the previous biochemical studies, reporting increased levels of protein, aminoacids, DNA and RNA during larval development (Lang *et al.*, 1965; Church and Robertson, 1966 ; Horie and Watanabe, 1983). The body, SG, testis and ovary weights of freshly moulted and fully grown larvae in bivoltine races on an average were recorded in the range of 500-1300 and 2810-4990 mg (body wt.), 38-127 and 500-1080 mg (SG), 3.30-4.16 and 3.82 - 4.66 mg (testis) and 1.30-1.78 and 2.08- 2.25 mg (ovary). Similarly, in multivoltine races, corresponding weights ranged as 300-1040 and 1900-4200 mg (body wt.), 11-90 and 200-950 mg (SG) 2.68-4.15 and 3.08-4.97 mg (testis) and 1.28-1.68 and 2.10-2.16 mg (ovary) (Tables I-III).

During larval development the tissue weights, particularly the SG was not uniform and varied markedly in all the breeds/hybrids. This observation might be due to the fact that the SG grows

Table I. Larval body, silk gland weights (g) and silk gland tissue somatic indices of different bivoltine silkworm breeds and hybrid during fifth instar.

Tableau I. Poids de la larve et de la glande séricigène (g) et indices somatiques tissulaires de la glande séricigène (SGTSI) de différentes souches de vers à soie bivoltins et d'hybrides au cinquième âge.

Larval age (days) Age larvaire (jours)	KA			Races / Races NB4D2			NB7		
	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Poids glande séricigène	Silk gland TSI TSI glande séricigène	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Poids glande séricigène	Silk gland TSI TSI glande séricigène	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Poids glande séricigène	Silk gland TSI TSI glande séricigène
0	1.13 ±0.092	0.119 ±0.012	10.53 ±0.96	0.942 ±0.092	0.106 ±0.008	11.25 ±0.810	0.968 ±0.054	0.100 ±0.010	10.33 ±0.814
1	1.49 ±0.102	0.160 ±0.011	10.73 ±0.02	1.340 ±0.126	0.148 ±0.010	11.04 ±0.783	1.22 ±0.120	0.125 ±0.009	10.25 ±0.919
2	2.00 ±0.161	0.223 ±0.016	11.15 ±0.816	1.810 ±0.130	0.208 ±0.015	11.49 ±0.746	1.64 ±0.105	0.177 ±0.010	10.79 ±0.912
3	2.56 ±0.164	0.476 ±0.018	18.59 ±0.984	2.41 ±0.126	0.487 ±0.034	20.21 ±0.977	2.19 ±0.131	0.353 ±0.019	16.12 ±0.964
4	3.39 ±0.179	0.621 ±0.036	18.32 ±0.966	3.32 ±0.134	0.618 ±0.051	18.61 ±0.718	3.00 ±0.128	0.473 ±0.025	15.77 ±0.910
5	3.86 ±0.182	0.722 ±0.043	18.70 ±0.845	3.80 ±0.118	0.735 ±0.053	19.34 ±0.812	3.46 ±0.130	0.576 ±0.029	16.65 ±0.896
6	4.55 ±0.169	0.934 ±0.067	20.53 ±1.10	4.45 ±0.182	0.984 ±0.061	22.11 ±0.993	4.20 ±0.128	0.830 ±0.048	19.76 ±1.03
7	4.99 ±0.184	1.011 ±0.081	20.26 ±0.916	4.87 ±0.184	1.08 ±0.076	22.24 ±0.810	4.60 ±0.140	1.000 ±0.068	21.74 ±1.10

Continued / Suite page suivante

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

Larval age (days) <i>Age larvaire</i> (jours)	NB18			Race / Race PCN			NB18 × NB7		
	Larval weight <i>Poids</i> <i>larvaire</i>	Silkgland weight <i>Poids glande</i> <i>séricigène</i>	Silkgland TSI <i>TSI glande</i> <i>séricigène</i>	Larval weight <i>Poids</i> <i>larvaire</i>	Silkgland weight <i>Poids glande</i> <i>séricigène</i>	Silkgland TSI <i>TSI glande</i> <i>séricigène</i>	Larval weight <i>Poids</i> <i>larvaire</i>	Silkgland weight <i>Poids glande</i> <i>séricigène</i>	Silkgland TSI <i>TSI glande</i> <i>séricigène</i>
0	0.976 ±0.062	0.108 ±0.011	11.07 ±0.766	0.501 ±0.022	0.038 ±0.002	7.058 ±0.540	1.02 ±0.086	0.127 ±0.009	10.45 ±0.710
1	1.29 ±0.110	0.130 ±0.009	10.08 ±0.760	0.675 ±0.036	0.052 ±0.003	7.70 ±0.561	1.34 ±0.078	0.159 ±0.010	11.87 ±0.761
2	1.74 ±0.119	0.184 ±0.012	10.57 ±0.744	0.928 ±0.061	0.085 ±0.005	9.26 ±0.684	1.77 ±0.081	0.321 ±0.015	12.22 ±0.640
3	2.30 ±0.120	0.334 ±0.018	14.52 ±0.902	1.28 ±0.124	0.177 ±0.010	13.83 ±0.862	2.33 ±0.132	0.366 ±0.019	15.71 ±0.811
4	3.15 ±0.126	0.437 ±0.026	13.87 ±0.760	1.790 ±0.103	0.229 ±0.014	12.05 ±0.714	3.17 ±0.148	0.471 ±0.026	14.86 ±0.784
5	3.65 ±0.140	0.585 ±0.024	16.03 ±0.810	2.16 ±0.132	0.313 ±0.014	14.49 ±0.812	3.69 ±0.136	0.615 ±0.037	16.67 ±0.831
6	4.43 ±0.176	0.844 ±0.040	19.05 ±0.794	2.63 ±0.120	0.446 ±0.025	16.96 ±0.914	4.42 ±0.194	0.831 ±0.048	18.80 ±0.917
7	4.86 ±0.196	1.098 ±0.066	22.00 ±1.08	2.81 ±0.126	0.499 ±0.025	17.76 ±0.996	4.98 ±0.216	1.103 ±0.074	22.15 ±0.993

The values are the mean of two trials and each value is the mean ± S.D. of six individuals.

Les valeurs représentent les moyennes de deux essais, chaque valeur exprimant l'écart type moyen ± de six individus.

Table II. Larval body, silk gland weights (g) and silk gland tissue somatic indices of different multivoltine silkworm breeds and hybrid during fifth instar.

Tableau II. Poids de la larve et de la glande séricigène (g) et indices somatiques tissulaires (SGT SI) de différentes souches polyvoltines de vers à soie et d'hybrides au cinquième âge.

Larval age (days) Age larvaire (jours)	Races / Races											
	HM			MY ₁			PM			PM × NB ₁₈		
	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Pds. gl. séric.	Silk gland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Pds. gl. séric.	Silk gland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Pds. gl. séric.	Silk gland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silk gland weight Pds. gl. séric.	Silk gland TSI TSI gl. séric.
0	1.04 ±0.081	0.090 ±0.006	8.65 ±0.762	0.609 ±0.041	0.038 ±0.002	6.24 ±0.300	0.296 ±0.020	0.011 ±0.0007	3.72 ±0.180	0.694 ±0.049	0.067 ±0.002	9.89 ±0.691
1	1.29 ±0.078	0.130 ±0.009	10.08 ±0.718	0.737 ±0.039	0.056 ±0.003	7.60 ±0.316	0.351 ±0.024	0.016 ±0.0009	4.56 ±0.161	0.881 ±0.062	0.100 ±0.008	11.35 ±0.680
2	1.62 ±0.086	0.203 ±0.010	12.53 ±0.812	0.970 ±0.056	0.085 ±0.005	8.76 ±0.374	0.466 ±0.026	0.026 ±0.001	5.58 ±0.190	1.170 ±0.082	0.196 ±0.009	16.68 ±0.874
3	2.10 ±0.126	0.397 ±0.020	18.90 ±0.986	1.21 ±0.076	0.181 ±0.011	14.96 ±0.652	0.644 ±0.035	0.048 ±0.003	7.45 ±0.240	1.78 ±0.125	0.329 ±0.014	18.48 ±1.294
4	2.98 ±0.181	0.525 ±0.029	17.62 ±0.946	1.99 ±0.120	0.274 ±0.015	13.77 ±0.700	0.906 ±0.045	0.074 ±0.005	8.17 ±0.376	2.78 ±0.167	0.559 ±0.027	20.10 ±1.21

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

Larval age (days) Age larvaire (jours)	HM			MY ₁			Races / Races			PM			PM × NB ₁₈		
	Larval weight Poids larvaire	Silkgland weight Pds. gl. séric.	Silkgland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silkgland weight Pds. gl. séric.	Silkgland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silkgland weight Pds. gl. séric.	Silkgland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silkgland weight Pds. gl. séric.	Silkgland TSI TSI gl. séric.	Larval weight Poids larvaire	Silkgland weight Pds. gl. séric.	Silkgland TSI TSI gl. séric.
5	3.35 ±0.185	0.627 ±0.037	18.72 ±1.00	2.52 ±0.121	0.368 ±0.016	14.60 ±0.800	1.143 ±0.080	0.105 ±0.007	9.19 ±0.396	3.23 ±0.227	0.681 ±0.030	21.08 ±1.27			
6	3.87 ±0.191	0.835 ±0.058	21.58 ±1.12	3.20 ±0.165	0.497 ±0.016	15.53 ±0.932	1.580 ±0.069	0.161 ±0.011	10.19 ±0.576	3.94 ±0.275	0.893 ±0.063	22.66 ±1.32			
7	4.29 ±0.176	0.914 ±0.071	21.31 ±1.14	- -	- -	- -	1.820 ±0.067	0.228 ±0.016	12.53 ±0.666	4.22 ±0.296	0.924 ±0.065	21.90 ±1.73			

The values are the mean of two trials and each value is the mean ± S.D. of six individual observations.

Les valeurs correspondent aux valeurs moyennes de deux essais et chaque valeur exprime l'écart type moyen ± de S.D. de six observations.

relatively faster than any other tissues of the body. This allometric or hetogenic growth of SG was particularly obvious in final instar, when the relative weight of the gland increased on an average from 10 and 8 % to more than 20 and 16 % of the body weight in bivoltine and multivoltine races respectively. Such a disharmonic growth of the SG further provides an idea to find out the growth proportion of different tissues to the body weight. Hence, in the present study a wide range of silkworm races were selected and SGTSI and GSI (ratio of SG, testis and ovary weights against larval body) were calculated.

Tissue somatic index is one of the prime parameters and its application in modern biology has great advantages to understand and interpret the various organ developmental patterns of an individual against a standard. The SGTSI values on an average were found in the range of 8-11 % and 4-9 % (freshly moulted larvae) and 18-22 % and 10-21 % (fully grown larvae) in bivoltine and multivoltine races respectively. It indicates, the SGTSI in all the races were increased by two folds from newly moulted to fully grown larvae. The proportionate ten fold increase in the rate of SG development over five fold increase in larval body, resulted in two fold increase in SGTSI during V instar development. Among bivoltine and multivoltine races the SGTSI values from highest to lowest were recorded in the order of NB₄D₂ > NB₁₈ > NB₇ > KA > HM > PCN > MY₁ > PM in Pure races and NB₁₈ × NB₇ > PM × NB₁₈ in hybrids. Hence, SGTSI has a direct correlation to the productivity of silk in various races. The results obtained on TSI of GS, suggest that the silk production from highest to lowest degree in different pure races is in the order of NB₄D₂ > NB₁₈ > NB₇ > KA > HM > PCN > MY₁ > PM and NB₁₈ × NB₇ > PM × NB₁₈ in hybrids. This ranking is well in agreement with the classification of the above races and hybrids for productivity.

The gonosomatic index (TSI of testis and ovary) decreased gradually as the growth proceeded in all races and suggested a slow rate of growth in testis and ovary against larval weight during V instar (Table III).

The important observation in the present study was the two distinct growth peak periods in larval body as well as in silk gland during V instar (Table I and II; Fig. 1-4). The first maximum weight in larval body and SG was recorded on 4th and 3rd day respectively, whereas the second maximum growth of these two were recorded on 6th day in all the races, considered as I & II peak periods in growth. The possible explanation for this observation is, the total feed ingested by the larvae on 2nd and 5th day could be utilized more towards the synthesis of silk rather than converted for other tissue metabolic activities. To confirm this statement, an experiment was conducted under restricted feed index and found that 23 and 33 % reduction in silk gland weight was recorded on 2nd and 5th day of V instar respectively, when 75 % feed cut was carried out (unpublished data). This observation clearly demonstrated that nutritional stress during these days may seriously affect the functional activity of the silk gland. The second explanation is that, it is in conformity with the biochemical results, with special reference to ion changes reported by earlier workers in final instar larvae of *Bombyx mori* (Yagi, 1926). The ion constituents, viz., Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, were increased gradually and reached a high level on the 3rd and 6th days of V instar with a decline on either side of these days. Further, the author suggested that the time of the lower level of blood ions at the 4th day of same instar, coincides with that of the weak period of silkworm against the environmental injuries. From this phenomenon, Yagi advocated a theory of the two growth cycles of the silkworm, the first with the blood ions increase period as the pro-instar and second ions increase period as the post-instar. The observed lower level of body and SG weights, especially on the day of commencement of spinning were associated with the sharp decrease in the biochemical components, with special reference to proteins, (Singh and Singh 1979, 1984) which are utilized for massive silk synthesis, when the food consumption reduced towards spinning period.

The testis and ovary weights were increased steadily throughout the V instar development. However it is interesting to note that the developmental pattern of these tissues were markedly varying among races. On an average in the newly moulted final instar larvae of bivoltine races had a testicular weight of 3.95 mg which is higher than the multivoltine races (3.35 mg). But, in fully grown bivoltine larvae the total increase was only 13.03 % against 16.74 % recorded in multivoltine races, suggesting faster testicular growth rate in multivoltine than bivoltine races. Further, the testicular weight in Hosa Mysore (HM) race initially was only 1.3 % higher than the other races, but reached significant level

Table III. Testis, ovary weights (mg) and gonosomatic indices of different silkworm breeds/hybrids in final instar.

Tableau III. Poids des testicules et des ovaires (mg) et indices somatiques des gonades (GSI) de différentes souches de vers à soie et d'hybrides au dernier âge larvaire.

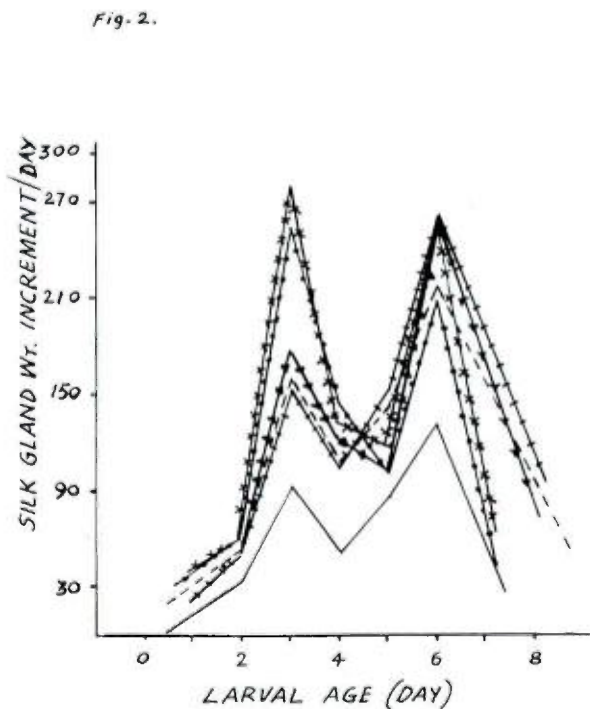
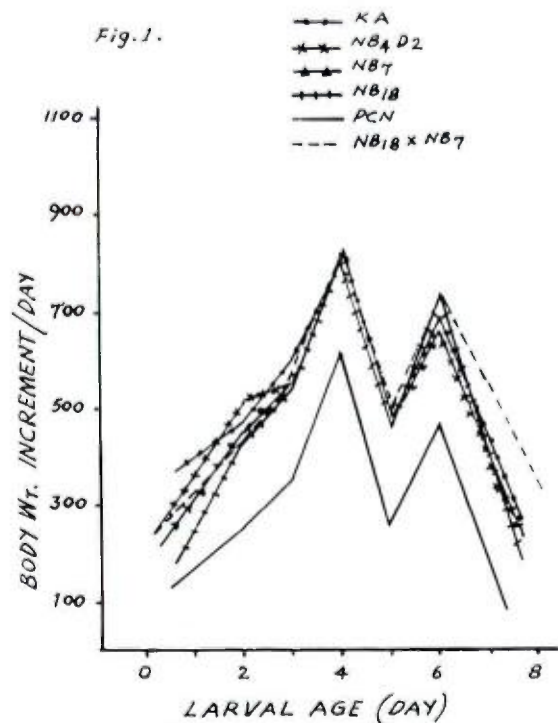
Race	Testis / Testicules			Ovary / Ovaires		
	Newly moulted larvae <i>Larves sorties à ecdysis</i>	Fully grown larvae <i>Larves matures</i>	% change <i>Variation (%)</i>	Newly moulted larvae <i>Larves sorties à ecdysis</i>	Fully grown larvae <i>Larves matures</i>	% change <i>Variation (%)</i>
KA	4.03 ±0.153 (0.0036)	4.49 ±0.150 (0.0009)	+ 11.41 " "	1.64 ±0.098 (0.0015)	2.08 ±0.096 (0.0004)	+26.83 " "
NB ₇	4.10 ±0.172 (0.0043)	4.63 ±0.144 (0.0010)	+ 12.93 " "	1.700 ±0.101 (0.0018)	2.20 ±0.126 (0.00048)	+ 29.41 " "
NB ₁₈	4.05 ±0.171 (0.0042)	4.68 ±0.132 (0.0009)	+ 15.06 " "	1.650 ±0.086 (0.0017)	2.25 ±0.113 (0.00046)	36.36 " "
NB ₄ D ₂	4.16 ±0.157 (0.0044)	4.55 ±0.160 (0.0009)	+ 9.38 " "	1.78 ±0.108 (0.0019)	2.25 ±0.101 (0.00046)	+ 26.40 " "
PCN	3.30 ±0.160 (0.0066)	3.82 ±0.156 (0.0014)	+ 15.76 " "	1.580 ±0.0072 (0.0016)	2.18 ±0.130 (0.00078)	+ 37.12 " "

Continued / Suite page suivante

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

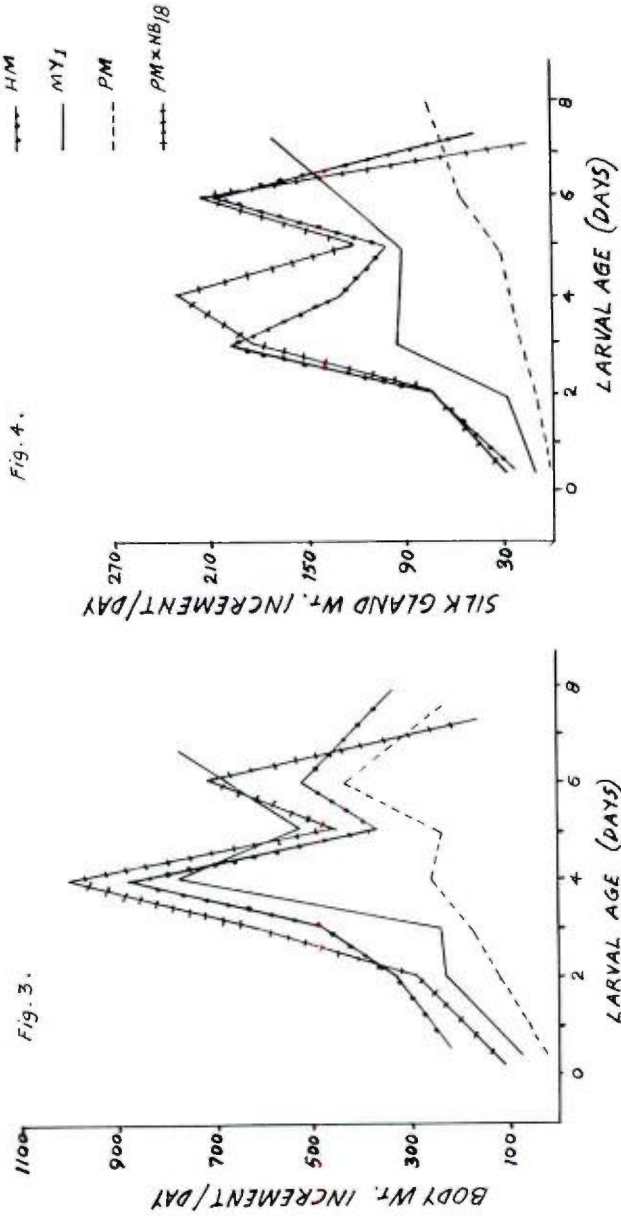
Race	Testis / Testicules			Ovary / Ovaires		
	Newly moulted larvae <i>Larves sorties à ecdysis</i>	Fully grown larvae <i>Larves matures</i>	% change <i>Variation (%)</i>	Newly moulted larvae <i>Larves sorties à ecdysis</i>	Fully grown larvae <i>Larves matures</i>	% change <i>Variation (%)</i>
NB ₁₈ × NB ₇	4.04 ±0.196 (0.0040)	4.63 ±0.166 (0.0009)	+ 14.60 " "	1.750 ±0.105 (0.0017)	2.30 ±0.098 (0.00046)	+31.43 " "
HM	4.15 ±0.172 (0.0040)	4.97 ±0.169 (0.0012)	+ 19.76 " "	1.68 ±0.101 (0.0016)	2.16 ±0.100 (0.00051)	+28.57 " "
MY ₁	3.53 ±0.140 (0.0058)	4.02 ±0.136 (0.0013)	+ 13.88 " "	1.57 ±0.100 (0.0026)	2.12 ±0.098 (0.00066)	+ 35.03 " "
PM	2.68 ±0.134 (0.0091)	3.08 ±0.140 (0.0017)	+ 14.93 " "	1.28 ±0.0094 (0.0040)	2.10 ±0.103 (0.0009)	+ 64.06 " "
PM × NB ₁₈	3.02 ±0.130 (0.0044)	3.55 ±0.122 (0.0008)	+ 17.55 " "	1.49 ±0.089 (0.0022)	2.20 ±0.106 (0.00050)	+ 47.65 " "

Values are average of two trials and each value is the mean $\pm$ S.D. of six individual observations followed by % change and P values calculated for newly moulted - fully grown larvae are statistically significant ($P < 0.05$). The values given in parenthesis are the TSI of testis and ovary (GSI).
Les valeurs correspondent aux moyennes de deux essais et chaque valeur représente l'écart type moyen $\pm$ de six observations individuelles suivie du pourcentage de variation et des valeurs de P calculées pour les larves en sortie de mue et les larves au V^{ème} âge sont statistiquement significatives ($P < 0.05$). Les valeurs données entre parenthèses correspondent au TSI des testicules et des ovaires (GSI).



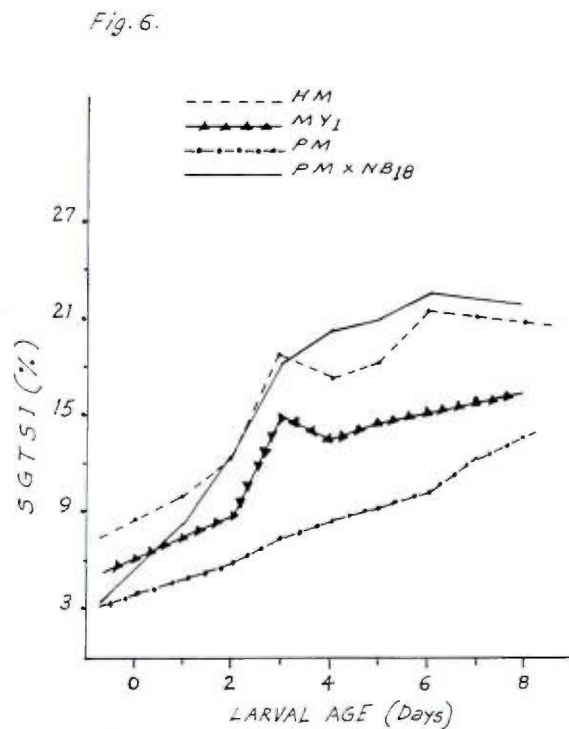
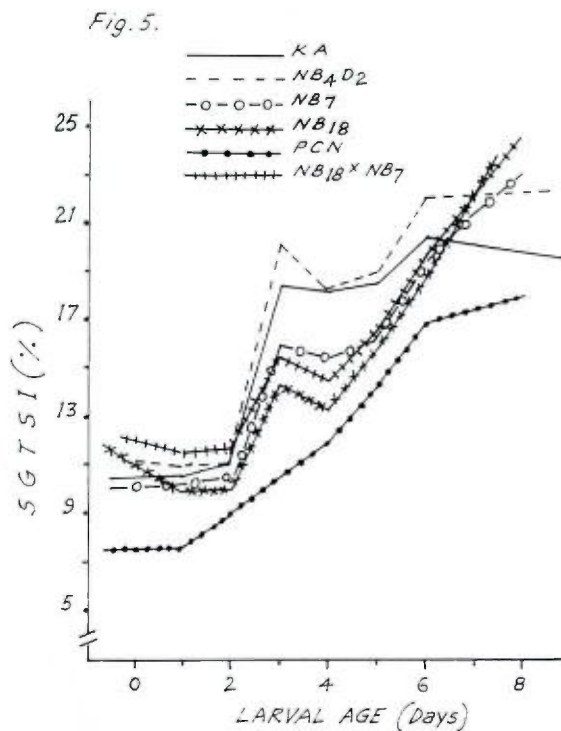
Figs. 1 & 2 : Body and silk gland weights increment (mg) per day in bivoltine silkworm breeds and hybrid during V instar.

Figs. 1 & 2 : Augmentation journalière du poids du corps et de la glande séricigène (mg) chez les races et les hybrides bivoltins au cinquième âge.



Figs. 3 & 4 : Body and silk gland weight increment (mg) per day in multivoltine silkworm breeds and cross breed during V instar.

Figs. 3 & 4 : Augmentation journalière du poids du corps et de la glande séricigène (mg) chez les races et croisements polyvoltins au cinquième âge.



Figs. 5 & 6 : Silk gland tissue somatic index (SGT SI) in bivoltine and multivoltine silkworm breeds and hybrids during final instar.

Figs. 5 & 6 : Indice somatique tissulaire de la glande séricigène (SGT SI) chez les races et hybrides bivoltins et polyvoltins au dernier âge.

of 8.8 % difference on the final day, indicating faster developmental rate of the tissue in this race than any other races tested in the present study. The reason for such rapid testicular growth in HM is not known.

Among bivoltine and multivoltine races, the former had higher ovarian weight. However, in fully grown larvae of multivoltines the total increase was 42.56 % against 31.22 % recorded in bivoltines, indicating faster ovarian growth in multivoltine than in bivoltine races. On comparison of the developmental pattern of testis (14.53 %) and ovary (35.48 %) it was found that in the later case growth rate was faster.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors express their sincere thanks to the Director, Central Sericultural Research and Training Institute (CSR & TI) Mysore for his keen interest and encouragement in the present work.

REFERENCES

- BRODY S. (1927), Growth and development with reference to domestic animals. III. Growth rates their evaluation and significance. Bull. Univ. Missouri. Coll. Agr. Exp. Sta. Res. Columbia, (MO), 97, 70-84.
- BUXTON P.A. (1938), Allometric growth. *Pediculus anop.* Parasitology, 30, 65-84.
- CHURCH R.B., ROBERTSON F.W. (1966), A biochemical studies on the growth of *Drosophila melanogaster*. J. Exp. Zool., 162, 337-352.
- DURTE A.J. (1938), Problems of growth of the African migratory locust. Bull. Ent. Res., 29, 425-456.
- DAVEY P.W. (1955), Quantities of food eaten by the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk) in relation to growth. Bull. Ent. Res., 45, 539-551.
- GABRIEL B.R., RAPUSAS H.R. (1976), The growth and development of *Bombyx mori* L. at different leaf maturity and variety of mulberry. The Phillippine agriculturist, 60, 139-146.
- HILL L., GOLDSWORTHY G.J. (1968), Growth, feeding activity and the utilization of reserves in larvae of Locust. J. Insect Physiol., 14, 1085-1098.
- HILL L., LUNTZ A.J., STEELE P.A. (1968), The relationship between somatic growth, ovarian growth and feeding activity in the adult desert Locust. J. Insect Physiol., 14, 1-20.
- HORIE Y., WATANABE K. (1983), Effect of various kinds of dietary protein and supplementation with limiting aminoacids on growth, haemolymph components and uric acid excretion in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect. Physiol., 29, 187-199.
- JOSHI K.L. (1987), Progressive factor for growth in Eri silkmoth *Philosamia ricini* (Hutt.) Lep. Saturniidae in relation to diet. Indian J. Seric., 27, 98-99.
- KRISHNA K.A., BERRY S.J., OBERLANDER SCHNEIDERMAN H.A. (1967), Nucleic acid synthesis during insect development. Its control of DNA synthesis in the cecropia silkworm and other saturniid moths. J. Insect Physiol., 13, 1-57.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMAR RAJ S. (1973), "Silkworm rearing" manual on sericulture. Vol. 2, Chapter IV, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, 54-58.
- LANG C.A., LAUD H.Y., JEEFERSON J. (1965), Protein and nucleic acid changes during growth and ageing the mosquito. Biochem. J., 95, 372-377.
- MILES H.W. (1931), Growth in the larvae of Tenthredinidae. J. Exp. Biol., 8, 355-364.
- MOHANRAO H.N., TONAPI G.T. (1970), A biometrical analysis of growth in the larvae of *Dineutes indicus* Aube (Gyrinidae : Coleoptera). Indian J. Ent., 32, 39-50.
- PRASAD J. BHATTACHARYA L. (1980), Larval head capsules of the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). Indian J. Ent., 42, 64-67.
- POONIJA F.S. (1978), Studies on food utilization and rate growth during the developmental stages of Eri silkworm, *Philosamia ricini* (Lepidoptera : saturniidae). Indian J. Seric., 17, 48-60.
- SHAFFER G.D. (1923), The growth of dragonfly nymphs at the moult and between moults. Stanford Univ. Publ. Biol. Sci., 3, 307-338.

SLAMA K. (1957), The metabolism of insects V. Growth and oxygen consumption during post embryonic development of sawfly, *Athalia Colibri* (Christ.). Acta. Soc. Zool. Bohemoslov., 21, 289-299.

SIDHU R., MISRA S.D. (1980), Growth of Mantes, *Himbertiala Similis* G. Tos., fed on Drosophila flies., Indian J. Ent., 42, 106-109.

SINGH S.P., SINGH M.K. (1979), Tissue specific bio-chemical alterations prior to spinning in the eri silkworm, *Philosamia ricini*. Experimentia, 35, 792-793.

SINGH S.P., SINGH M.K. (1984), Changes in protein metabolism in the middle and posterior silk gland tissue of Eri silkworm, *Philosamia ricini*, in relation to spinning. Ent., 9, 253-256.

TANAKA Y. (1964), In : Sericology, Published by Mahesh Nanavaty, Tanaka Y. (ed.) 95-B, Meghdoot, Marine Drive, Bombay, India.

UEDA S. (1982), Theory of the growth of silkworm larvae and its application. JARQ, 15, 180-184.

UEDA S., KIMURA E., SUZUKI K. (1969), Studies on the growth of the silkworm, *Bombyx mori* L. II. Influence of the rearing conditions upon the larval growth, productivity of silk substances, egg's and boiled-off loss in the cocoon shell. Bull. Seri. Exp. Station, 23, 290-293.

UEDA S., KIMURA E., SUZUKI K. (1971), Studies on the growth of the silkworm, *Bombyx mori* L. III Relative increase in body weight and silkgland weight in the fifth instar larvae. Bull. Seri. Exp. Station, 25, 1-20.

WILLIAMS C.M. (1980), Growth in insects. In : Insect biology in the future. Locks M., Smith D.S. (eds.), Academic Press., New York, 369-383.

YAGI N. (1926), Analysis of growth curves of the insect larvae. Mem. Kyoto. Imp. Coll. Agricul., 1, 1-35.

ETUDES SUR LES INDICES SOMATIQUES TISSULAIRES (TSI) DE LA GLANDE SERICIGENE ET DES GONADES DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. AU 5^{ème} AGE.

K. VENKATA RAMI REDDY, K.V. BENCHAMIN

Silkworm Physiology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampuram, Mysore 570 008, Inde.

*Un profil du taux de croissance des tissus a été étudié chez divers souches courantes de vers à soie hybrides, à savoir KA, NB4D2, NB7, NB18, PCN, HM, PM, NB18 × NB7 et PM × NB18 au 5ème âge. Au cours de la maturation, deux pics différents dans la croissance ont été enregistrés pour le poids du corps de la larve et de la glande séricigène. Les premier et deuxième pics de la croissance de la glande séricigène ont été enregistrés au 3ème et 6ème jour alors que des pointes similaires pour le poids larvaire ont été observées au 4ème et au 6ème jour. L'indice somatique des tissus est parallèle aux variations du poids de la glande séricigène lors du développement chez toutes les races. Néanmoins, aucune période présentant un pic bimodal semblable n'a été observé pour le poids des gonades. Le développement des testicules est plus rapide chez les races polyvoltines que chez les races bivoltines. Le taux de croissance des ovaires est plus rapide que le développement des testicules. La corrélation possible entre l'indice somatique des tissus et la productivité de la soie chez divers souches de vers à soie hybrides *Bombyx mori* est discutée.*

INTRODUCTION

Chez *Bombyx mori*, la croissance larvaire est liée à la souche et le taux de croissance de chaque âge est influencé par la robustesse des souches utilisées (Gabriel et Rapusas, 1976) et les conditions dans lesquelles se développent les larves (Ueda et coll., 1969, 1971 ; Ueda, 1982 ; Krisnaswami et coll., 1973). La croissance larvaire chez les insectes est marquée par des changements dans la forme du corps et les différentes parties du corps évoluent à des degrés différents, chez *Bombyx mori* en particulier, où le développement de la glande séricigène au dernier âge est remarquable. Le taux de croissance du poids larvaire d'un insecte est très faible au début de chaque âge, rapide au milieu puis à nouveau faible à la fin du stade larvaire (Yagi, 1926 ; Durte, 1938 ; Buxton, 1938 ; Davey, 1955 ; Slama, 1957 ; Church et Robertson, 1966 ; Poonija, 1978). Bien que de nombreux chercheurs aient publié des résultats sur la croissance avec des références spéciales sur la largeur (diamètre) de la capsule céphalique chez différentes espèces d'insectes (Shafer, 1923 ; Brody, 1927 ; Miles, 1931 ; Hill et Goldsworthy, 1968 ; Hill et coll., 1968 ; Mohan Rao et Tonalpi, 1970 ; Prasad et Batacharia, 1980 ; Williams, 1980 ; Diphu et Misra, 1980 ; Joshi, 1987), aucune étude n'a été faite sur le taux de croissance journalier de divers tissus par rapport au poids larvaire chez différentes races de vers à soie. On sait que, chez le ver à soie, le besoin en feuille au 5ème âge seul représente 85 % du total. Au cours du même âge, des augmentations de 78,5 %, 80 % et 97,5% sont observées pour la taille, le poids du corps et le poids de la glande séricigène respectivement (Tanaka, 1964). De plus, la restriction de cette étude au 5ème âge a pour but de démontrer les différences raciales des indices somatiques tissulaires de la glande séricigène et des gonades du ver à soie *Bombyx mori*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel :

Cinq races de vers à soie bivoltins (KA, NB4D2, NB7, NB18 et PCN), trois races polyvoltines (HM, MY₁ et PM) et deux hybrides (NB18 × NB7 et PM × NB18) entretenues au CSR & TI, Mysore, Inde, ont été utilisées pour cette étude comme matériel expérimental. Deux pontes de chaque souche hybride ont été levées et les larves ont été élevées sur la variété de mûrier Kanva-2 en respectant les conditions de 70 ± 2 % d'humidité relative et une photopériode 12:12 à $25.0 \pm 1^\circ\text{C}$ (Krisnaswami et coll., 1973).

Méthodes :

Des larves saines en sortie de mue ont été utilisées pour déterminer les poids initiaux du corps et de la glande séricigène et cette date est considérée comme jour zéro. Dans chaque population, un sous-échantillon de 6 larves a été prélevé et sacrifié chaque jour à 24 h d'intervalle et les testicules, les ovaires et la glande séricigène (SG) ont été soigneusement disséqués en milieu froid (4°C) avec un minimum de stress mécanique ou de lésion. Le sang adhérent et l'eau ont été buvardés et le poids net de chaque tissu en fonction du poids du corps a été mesuré.

Détermination des courbes du taux de croissance du corps et de la glande séricigène :

Le poids larvaire et le poids de la glande séricigène ont été relevés chaque jour à 24 h d'intervalle et les augmentations journalières des poids ont été relevées en faisant la soustraction des poids avec le poids du jour précédent. Les valeurs obtenues aux différents jours ont été portées pour les races bivoltines et polyvoltines sur des graphiques séparés (Fig. 1-4).

L'indice somatique des tissus (TSI) est déterminé en prenant le poids total du tissu et le poids total du corps de la larve et calculé en utilisant la formule suivante :

$$\frac{\text{Poids du tissu}}{\text{Poids de la larve}} \times 100$$

Les valeurs obtenues des indices somatiques des tissus de la glande séricigène et des gonades sont donc appelées indices somatiques des tissus de la glande séricigène (SGTSI) et indices somatiques des gonades (GSI). Les valeurs de SGTSI sont enregistrées de façon graphique comme des courbes du taux de croissance pour les races bivoltines et polyvoltines séparément (Figs. 5-6).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans les tableaux I-III et sur les figures 1-6 montrent les changements dans les poids du corps de la larve, de la glande séricigène (SG), des gonades et des indices somatiques (SGTSI et GSI) chez différentes souches de vers à soie hybrides au 5^{ème} âge. Les augmentations du poids journalier du corps, de la glande séricigène et des valeurs nettes de SGTSI sont représentées graphiquement.

Les poids de la larve, de la glande séricigène, des testicules et des ovaires augmentent au cours du développement au 5^{ème} âge. L'augmentation du poids de ces tissus lors du cours normal est possible par une importante accumulation de constituants organiques tels que les protéines, les hydrates de carbone, les lipides et les acides nucléiques. Cette constatation est en accord avec les précédentes études biochimiques, indiquant une augmentation du taux de protéine, des acides aminés, de l'ADN et de l'ARN lors du développement larvaire (Lang et coll., 1965 ; Church et Robertson, 1966 ; Horie et Watanabe, 1983). Le poids du corps, de la glande séricigène, des testicules et des ovaires chez les larves en sortie de mue et chez les larves arrivées à maturité varient en moyenne dans les fourchettes suivantes pour les races bivoltines : 500-1300 et 2810-4990 mg (poids du corps), 38-127 et 500-1080 mg (glandes séricigènes), 3,30-4,16 et 3,82-4,66 mg (testicules) et 1,30-1,78 et 2,08-2,25 mg (ovaires). De façon similaire, chez les races polyvoltines, les poids correspondants sont les suivants : 300-1040 et 1900-4200 mg (poids du corps), 11-90 et 200-950 mg (glandes

séricigènes) 2,68-4,15 et 3,08-4,97 mg (testicules) et 1,28-1,68 et 2,10-2,16 mg (ovaires) (Tableaux I-III).

Lors du développement larvaire, le poids des tissus, en particulier celui de la glande séricigène, n'est pas uniforme et varie d'une façon très prononcée chez les différentes souches hybrides. Ceci est sans doute dû au fait que la glande séricigène augmente relativement vite par rapport aux autres tissus du corps. Cette croissance allométrique ou hétérogénique de la glande séricigène est particulièrement évidente au dernier âge, lorsque le poids relatif de la glande augmente en moyenne de 10 et 8 % à plus de 20 et 16 % du poids du corps chez les races bivoltines et polyvoltines respectivement. Une telle croissance dysharmonique de la glande séricigène permet de se faire une idée de la proportion de croissance de différents tissus par rapport au poids du corps. Donc, dans cette étude, une gamme étendue de races de vers à soie a été sélectionnée et les SGTSI et GSI (rapport du poids de la glande séricigène, des testicules et des ovaires sur le poids larvaire) ont été calculés.

L'indice somatique tissulaire est un des caractères les plus importants et son application dans la biologie moderne a des avantages considérables pour comprendre et interpréter les divers modèles de développement des organes d'un individu par rapport à une norme.

Les valeurs de SGTSI se situent en moyenne entre 8 et 11 % pour les mues récentes et entre 18 et 22 % pour les larves arrivées à maturité, tant chez les races bivoltines que polyvoltines. Ceci indique que le SGTSI chez toutes les races est multiplié par deux entre la sortie de mue et la maturité. Ceci résulte du fait que les glandes séricigènes subissent un taux de croissance de dix alors que la larve ne croît que de cinq fois pendant le 5^{ème} âge. Parmi les races bivoltines et polyvoltines, les valeurs de SGTSI des plus élevées aux plus faibles ont été enregistrées comme suit : NB₄D₂ > NB₁₈ > NB₇ > KA > HM > PCN > MY₁ > PM chez les races pures et NB₁₈ × NB₇ > PM × NB₁₈ chez les hybrides. De ce fait, le SGTSI est directement lié à la productivité de soie dans les diverses races. Les résultats obtenus sur les indices somatiques de la glande séricigène suggèrent que la production de soie de la plus élevée à la plus faible chez les différentes races pures correspond à l'ordre suivant NB₄D₂ > NB₁₈ > NB₇ > KA > HM > PCN > MY₁ > PM et NB₁₈ × NB₇ > PM × NB₁₈ chez les hybrides. Cet ordre correspond à la classification selon la productivité des races et des hybrides mentionnés.

L'indice gonosomatique (TSI des testicules et des ovaires) baisse graduellement au cours de la croissance chez toutes les races et suggère un taux de croissance faible pour les testicules et les ovaires par rapport au poids larvaire pendant 5^{ème} âge (Tableau III).

L'observation importante de cette étude concerne les deux pics de croissance distincts pour le corps et la glande séricigène au 5^{ème} âge (Tableaux I & II, Fig. 1-4). Le premier pic des poids maximaux du corps larvaire et de la glande séricigène est enregistré les 4^{ème} et 3^{ème} jours respectivement, alors que la seconde croissance maximale de ceux-ci est enregistrée le 6^{ème} jour chez toutes les races ; ils sont considérés comme les pics I et II de la croissance. Une des explications possible est que la quantité totale de nourriture ingérée par la larve aux 2^{ème} et 5^{ème} jours doit être utilisée davantage pour la synthèse de la soie que pour l'activité métabolique des autres tissus. Pour confirmer cette idée, une expérience a été réalisée en donnant une nourriture restreinte, ce qui a permis de constater une réduction du poids de la glande séricigène de 23 % et 33 % le 2^{ème} et le 5^{ème} jour du 5^{ème} âge, pour une alimentation réduite de 75 % (données non publiées). Cette observation démontre clairement que les contraintes alimentaires au cours de ces jours peuvent affecter sérieusement l'activité de la glande séricigène. Une autre explication possible serait conforme aux résultats biochimiques, et aurait un lien avec les variations des ions au 5^{ème} âge chez *Bombyx mori* signalées précédemment (Yagi, 1926). Les ions, à savoir Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, augmentent graduellement et atteignent un haut niveau aux 3^{ème} et 6^{ème} jours du 5^{ème} âge puis diminuent ensuite après chacun de ces jours. Les auteurs suggèrent que le moment où le niveau sanguin des ions est faible, au 4^{ème} jour larvaire, coïncide avec la période de faible immunité du ver à soie. De cette constatation, Yagi propose la théorie de l'existence de deux cycles de croissance chez le ver à soie, le premier correspondant à la période de croissance avec les ions sanguins au début du stade larvaire et le second, à la fin du stade larvaire. Les taux faibles du poids du corps et du poids de la glande séricigène observés en particulier le premier jour de filage sont associés à la baisse accentuée des composants bio-chimiques, et en particulier des protéines, (Singh et Singh, 1979, 1984) utilisés pour la synthèse massive de soie, lorsque la consommation de nourriture se réduit avant la période de filage.

Les poids des testicules et des ovaires augmentent de manière régulière au cours du 5ème âge. Néanmoins, il est intéressant de noter que le modèle de développement de ces tissus varie suivant les races. En moyenne, chez les larves bivoltines en sortie de mue, le poids des testicules est de 3,95 mg, taux bien plus élevé que chez les polyvoltins (3,35 mg). Mais chez les larves bivoltines arrivées à maturité, l'augmentation totale est seulement de 13,03 % contre 16,74 % chez les races polyvoltines, suggérant une croissance des testicules plus rapide chez les races polyvoltines que chez les bivoltines. De plus, le poids des testicules chez la race Hosa Mysore (HM) est seulement 1,3 % plus élevé que chez les autres races mais atteint un taux significatif de 8,8 % vers les derniers jours, ce qui indique un taux de développement des tissus plus rapide que chez les autres races expérimentées. Les raisons de cette croissance rapide des testicules chez HM ne sont pas connues.

Le poids des ovaires est plus élevé chez les races bivoltines que chez les polyvoltines. Néanmoins, chez les larves polyvoltines arrivées à maturité l'augmentation totale est de 42,56 % contre 31,22 %, taux enregistré pour les races bivoltines, ce qui indique une croissance des ovaires plus importante chez les races polyvoltines que chez les bivoltines. Le développement des ovaires (35,48 %) est plus rapide que celui des testicules (14,53 %).

IMPACT OF PUPAL WEIGHT ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE FOLLOWING GENERATION IN THE SILKWORM INDIAN RACE NB₇ (*BOMBYX MORI* L.)

B.L. VISWESWARA GOWDA, T.K. NARAYANASWAMY & R. MUNI RAJAPPA

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK Campus, Bangalore 560065, India.

The study indicated a sex ratio of 1:1.51 males to females in NB₇ race. In random population the frequency of moderate and heavy female pupae were higher compared to their counterparts, compared to light females. In female pupae the weight ranged from 1.0419 to 1.7108 g while, in male, it was 0.6847 to 1.4614 g. The average female and male pupal weights were 1.1507 and 1.0398 g.

Though the main effect of pupal weights did not alter the fecundity, the interaction showed a significant increase in fecundity with increased pupal weights. Similar trend in hatching was noticed. The increase in female pupal weight of the parent generation determined increased larval weight. Similarly, the main effects and interactions of differential pupal weights of male and female used in the parent generation registered a direct relationship in recording cocoon and shell weight and filament length. The survival rate was influenced only by female pupal weight being higher when moderate pupae were used for egg preparation. Likewise, the denier was influenced only due to differential weights of female pupae in the parent generation establishing a direct relationship between female pupal weight and the denier of the filament observed in the successive generation.

Keywords : *Bombyx mori*, pupal weight, generation.

INTRODUCTION

Vigour and quality seed is the requisite of sericulture industry. To achieve the same rigorous selection, sorting of cocoons and rejection of off-standard cocoons is resorted to, opting only for sound cocoons, laying due importance of pupal weight to grainage parameters. The previous works of Ahsan *et al.* (1976) with *Antheraea mylitta*, Miller *et al.* (1982) with *Antheraea polyphemous*, Mukerjee *et al.* (1983) with *Bombyx mori* L. and Nagalakshamma (1987) with *Philosamia ricini* have shown positive correlation between the female pupal weight and the total number of eggs laid. Hence, the current study was planned to assess the impact of varying pupal weights on growth and development of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.

MATERIAL AND METHODS

Both sexes of pupae were weighed individually and categorized into three classes viz., heavy, moderate and light pupae. The resulting moths from these pupae were crossed in reciprocal combinations. Besides, random control was run parallelly for comparison. From the resulting moths the grainage activity was continued. The experiment was conducted to evaluate fecundity, hatchability, rearing performance and post-cocoon parameters. In the succeeding generation egg preparation was done using the randomly sorted cocoons under each category of the parent generation.

Completely randomized design was adopted with ten treatments and four replications. The data were analysed using two-way ANOVA (Sundarraj *et al.*, 1972).

Each replication comprised five layings while evaluating fecundity and hatching. For rearing performance random 200 larvae after the 2nd moult formed a replicate. While evaluating the post-cocoon parameters fifty randomly selected cocoons were used for each replication.

RESULTS AND DISCUSSION

The random population of NB7 race recorded a sex ratio of 210 males to 318 females (1:1.51). In random population of the parent generation of NB7 race of *Bombyx mori* L. the light females (18.3 %) were less compared to light males (33.1 %). While the frequency of moderately weighing female pupae (56.8 %) was slightly more compared to males (55.4 %). However, frequency of heavy female pupae was much higher (24.9 %) compared to male (11.5 %). In light, medium and heavy female pupae the weight ranged from 1.0419 to 1.1927 g, 1.1928 to 1.4835 g and 1.4836 to 1.7108 g, respectively. Likewise, the weight of light, moderate and heavy male pupae ranged from 0.6847 to 0.9374 g, 0.9375 to 1.0978 g and 1.0979 to 1.4614 g, respectively. The average female and male pupal weights observed were 1.1607 g and 1.0398 g. Generally the female pupae recorded a higher weight of 10.66 % compared to male pupae.

The main effect of the pupal weight irrespective of their sex did not significantly alter the fecundity in the parent generation. However, the interaction showed a significant variation in fecundity. It was found to increase with increased pupal weight (475.0 to 596.25). Compared to control, only adults emerging from heavy male and female pupae showed a significantly higher fecundity. The above observations were found in conformity with those of Kvaratskeliya (1955) who observed higher egg yield with the higher average weight of the cocoons in mulberry silkworm. Similarly, Drooz (1964), Leuck and Perkins (1972), Boreyko (1972), Gahukar (1976), Fenemore (1979), Loera *et al.* (1980) and Haukioja *et al.* (1985) reported that female pupal weight and fecundity are highly correlated in elm span worm (*Ennomos subsignarius*), fall army worm (*Spodoptera frugiperda*), *Laspeyresia pomonella*, *Ostrinia nubilalis*, *Pthorimoea operculella*, South Western corn borer, *Epirrita autumnata*. A similar trend between pupal weight and fecundity was established in sericigenous insects like *Antheraea mylitta* (Ahsan *et al.*, 1976), *A. polyphenous* (Miller *et al.*, 1982), *B. mori* L. (Mukarjee *et al.*, 1983) and *Samia cynthia ricini* (Nagalakshamma, 1987). Yet the literature pertaining to the succeeding generation are lacking. However, in the succeeding generation the fecundity did not alter significantly due to differentially weighing male and female pupae in the parent generation during the present study (Fig. 1a & 1b).

The hatching of eggs was significantly influenced due to differential weight of male pupae besides its interaction with female pupae. As the male pupal weight increased, the hatching percentage significantly increased from 86.10 to 90.30 %.

The interaction revealed a significant increase in hatching of eggs as the pupal weight increased irrespective of sex. It was found significantly higher in eggs recovered from heavy $\times$ heavy combination (93.8 %). These observations are in agreement with those of Nagalakshamma (1987) who observed a significant influence of pupal weight on the percentage of hatching in eri eggs. It was found to decrease with decrease in pupal weight. An almost similar effect was traced in the succeeding generation in hatching of eggs. However, both in the parent and succeeding generation the effect of female pupal weight was found to be null. However, the interaction showed significant variation in larval weight. The increasing female pupal weight in any combination with male showed increasing trend in larval weight. However, the larvae in heavy $\times$ heavy combination (1.633 g) established superiority over control (1.354 g) (Table I).

The main effect of differential pupal weight in the parent generation evidently influenced the cocoon weight. The increase in male pupal weight from light (1.115 g) to medium (1.236 g) and heavy (1.199 g) traced significantly increased cocoon weight in the successive generation when both male and female pupal weight were simultaneously increased (1.046 to 1.415 g) (Table I). An almost similar trend was observed with regard to shell weight in the successive generation due to influence of differential pupal weights used in the parent generation. In light $\times$ light combination, the shell weight was 0.163 g, while the same was significantly higher with 0.239 g in heavy $\times$ heavy combination.

Table I. Relationship of pupal weight with larval and cocoon parameters.

Tableau I. Relation entre le poids de la chrysalide et les caractères de la larve et du cocon.

Male × / Mâle × female / femelle	Light* Léger	Medium* Moyen	Heavy* Lourd	Main effect Effet principal
Single larval weight (g) / Poids d'une larve (g)				
Light* / Léger*	1.083	1.457	1.238	1.259
Medium* / Moyen*	1.526	1.508	1.381	1.472
Heavy* / Lourd *	1.614	1.431	1.633	1.559
Main effect / Effet principal	1.408	1.465	1.417	
Control / Témoin	1.354			
Single cocoon weight (g) / Poids d'un cocon (g)				
Light / Léger	1.046	1.250	1.105	1.134
Medium / Moyen	1.053	1.220	1.077	1.116
Heavy / Lourd	1.247	1.240	1.415	1.301
Main effect / Effet principal	1.115	1.236	1.199	
Control / Témoin	1.128			
Survival (%) / Survie (%)				
Light / Léger	89.00	91.00	89.00	89.67
Medium / Moyen	93.50	94.50	96.00	94.67
Heavy / Lourd	94.00	87.00	86.75	89.25
Main effect / Effet principal	92.17	90.83	90.58	
Control / Témoin	89.50			
Single shell weight (g) / Poids d'une coque (g)				
Light / Léger	0.163	0.215	0.181	0.187
Medium / Moyen	0.160	0.188	0.170	0.173
Heavy / Lourd	0.180	0.229	0.239	0.216
Main effect / Effet principal	0.168	0.211	0.197	
Control / Témoin	0.182			

Continued / Suite page suivante

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

Factor <i>Facteur</i>	'F' test <i>Test 'F'</i>	SEM $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>	CD at 5 %
Single larval weight (g) / <i>Poids d'une larve (g)</i>			
1. Female pupal weight / <i>Poids chrysalide femelle</i>	*	0.053	0.109
2. Male pupal weight / <i>Poids chrysalide mâle</i>	NS	-	-
3. Interaction (female $\times$ male)	*	0.092	0.188
3. <i>Interaction (femelle $\times$ mâle)</i>			
Single cocoon weight (g) / <i>Poids d'un cocon</i>			
1. Female pupal weight / <i>Poids chrysalide femelle</i>	*	0.035	0.072
2. Male pupal weight / <i>Poids chrysalide mâle</i>	*	0.035	0.072
3. Interaction (female $\times$ male)	*	0.061	0.125
3. <i>Interaction (femelle $\times$ mâle)</i>			
Survival (%) / <i>Survie (%)</i>			
1. Female pupal weight / <i>Poids chrysalide femelle</i>	*	1.219	2.502
2. Male pupal weight / <i>Poids chrysalide mâle</i>	NS	-	-
3. Interaction (female $\times$ male)	NS	-	-
3. <i>Interaction (femelle $\times$ mâle)</i>			
Single shell weight (g) / <i>Poids d'une coque (g)</i>			
1. Female pupal weight / <i>Poids chrysalide femelle</i>	*	0.007	0.015
2. Male pupal weight / <i>Poids chrysalide mâle</i>	*	0.007	0.015
3. Interaction (female $\times$ male)	*	0.013	0.026
3. <i>Interaction (femelle $\times$ mâle)</i>			

* Moths emerged from pupae under different categories / *Papillons provenant de chrysalides de différentes catégories.*

Table II. Impact of pupal weight on filament length and denier.

Tableau II. Impact du poids de la chrysalide sur la longueur de la bave et sur le denier.

Male × / Mâle × Female / Femelle	Light Léger	Medium Moyen	Heavy Lourd	Main effect Effet principal
Filament length (m) / Longueur de la bave (m)				
Light / Léger	725.75	805.00	724.84	751.87
Medium / Moyen	645.80	639.75	751.07	678.88
Heavy / Lourd	713.33	810.99	763.20	762.51
Main effect / Effet principal	694.96	751.92	746.37	
Control / Témoin	747.90			
Denier / Denier				
Light / Léger	1.995	2.178	2.216	2.130
Medium / Moyen	2.189	2.282	2.195	2.222
Heavy / Lourd	2.441	2.242	2.518	2.400
Main effect / Effet principal	2.208	2.234	2.310	
Control / Témoin	2.350			
Factor / Facteur				
Main effect Effet principal	'F' test Test 'F'	SEM ± Ecart type moyen ±	CD at 5 %	
Filament length (m) / Longueur de la bave (m)				
1. Female pupal weight / Poids chrysalide femelle	*	16.575	34.012	
2. Male pupal weight / Poids chrysalide mâle	*	16.575	34.012	
3. Interaction (female × male)	*	28.709	58.911	
3. Interaction (femelle × mâle)				
Denier / Denier				
1. Female pupal weight / Poids chrysalide femelle	*	0.094	0.192	
2. Male pupal weight / Poids nymphe mâle	NS	-	-	
3. Interaction (female × male)	NS	-	-	
3. Interaction (femelle × mâle)				

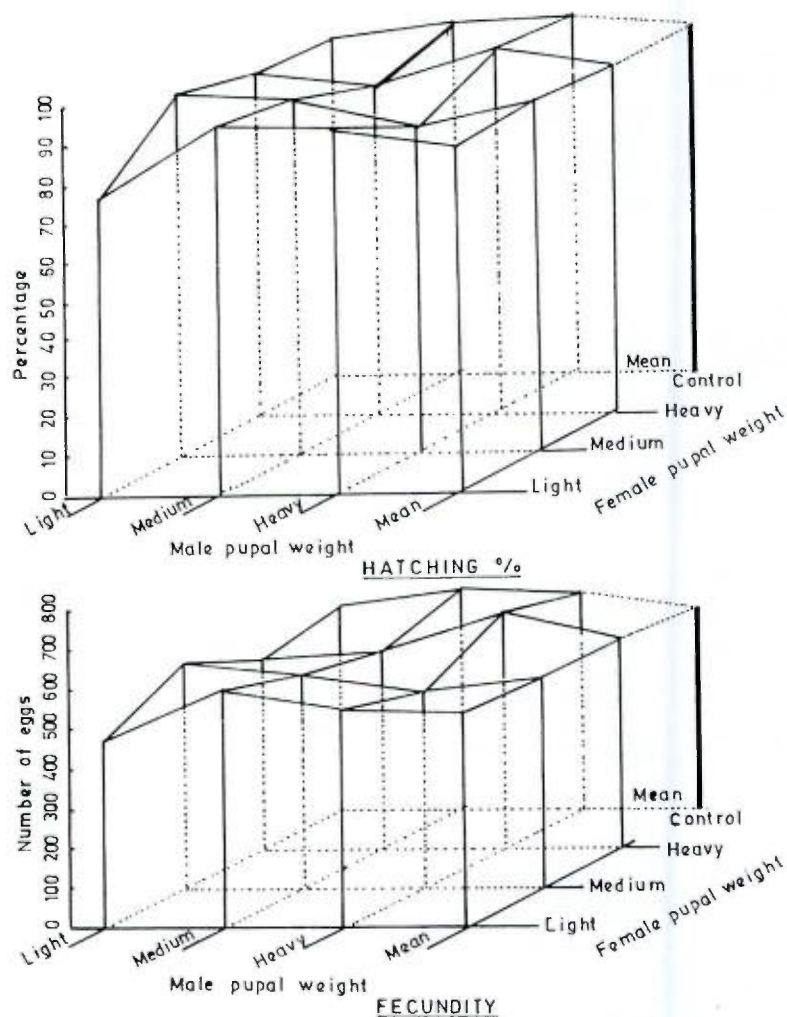


Fig. 1a : Influence of pupal weight on grainage parameters in parent generation.

Fig. 1a : Influence du poids de la chrysalide sur les paramètres du grainage chez la génération parentale.

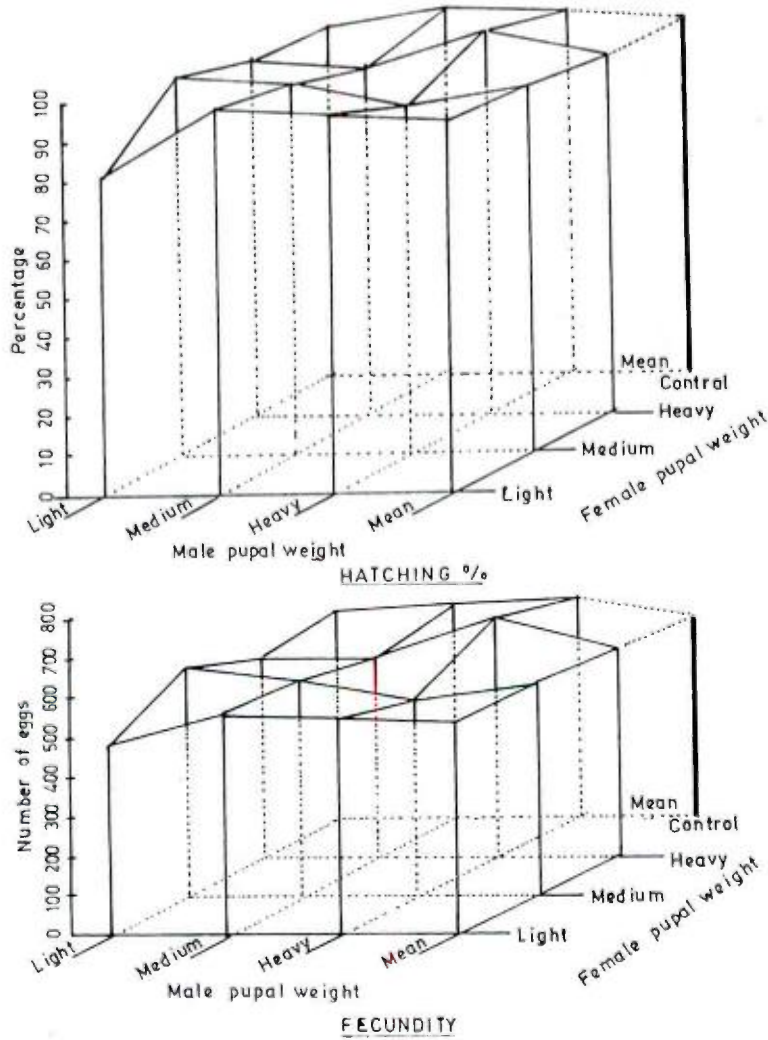


Fig. 1b : Influence of pupal weight on grainage parameters in succeeding generation.

Fig. 1b : Influence du poids de la chrysalide sur les paramètres du grainage à la deuxième génération.

Compared to cocoon weight (1.128 g) and shell weight (0.182 g) in controls, only in the treatment combinations heavy $\times$ heavy the above parameters were found superior.

The survival rate in the successive generation did not seem to be influenced by the use of pupae of differential weights for egg preparation. However, the moderate weight of female pupae was observed to determine better survival in the successive generation. The survival percentage ranged from 86.75 to 96.0 % (Table I).

The filament length was augmented significantly due to the use of differentially weighing pupae in the parent generation for egg preparation. However, a definite trend of improvement was not noticed. Yet, the main effect of male pupal weight was able to increase significantly the filament length from light (694.96 m) to medium (751.92 m) and heavy (746.37 m). In none of the treatment combinations the filament length was found significantly more compared to control ((747.9 m) (Table II).

The thickness of the filament was found to increase significantly with increased female pupal weight (2.1 to 2.4). However, the effect of male pupal weight and its interaction with the female pupal weights was found to be null (Table II).

The lack of literature concerning the influence of pupal weight on growth and development of the following generation pervades a critical comparison. The influence of pupal weight on fecundity and hatching is distinct being directly fostered as demonstrated in different insects. The increased growth of female pupal weight in parent generation determined increased larval weight in the following generation. Similarly, cocoon weight, shell weight, filament length and denier were also determined due to differential weights of female pupae in the parent generation giving a clue to realize a sort of maternal influence. However, the survival rate cautions the use of heavy female pupae for grainage purpose alarming for decreased survival. It was found highest when medium weighing pupae were used for egg preparation.

REFERENCES

- AHSAN M.A., KHANNAJAIN J.L. (1976), Relationship between weight of female pupae and the number of eggs laid by an adult of *Antheraea mylitta* D. Ann. Rep., Central Tasar Research Station, CSB, Ranchi, 6569.
- BOREYKO T.A. (1972), Correlation between pupal weight and fecundity in *Laspeyresia pomonetha* (Lepidoptera : olethrentidae). Zool. Zh., 51, 920-922.
- DROOZ A.T. (1964), Some relationships between host, egg potential and pupal weight of elm spanworm, *Ennomos subsignarius* (Lepidoptera : geometridae), the influence of adult food, pupal weight and host plant tissue on fecundity. Newzealan J. Zool., 6, 389-395.
- GAHUKAR R.T. (1976), Relations between various larval and pupal parameters as per sex and larval diet of *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera : pyralidae). Ann. Zool. Ecol. Anim., 8, 33-38.
- HAUKIOJA, ERKKI, SEPPONEUVONEN (1985), The relationship between size and reproductive potential in male and female *Epirrita autumnata* Bkh. (Lepidoptera : geometridae). Ecol. Entomol., 10, 267-270.
- KVARATSKELIYA L. (1955), A determination of the silkworm egg yield by the average weight of the cocoons. Trudy Gruzensk. S-kh Inst., 42/43, 398-399.
- LEUCK D.B., PERKINS W.D. (1972), A method of estimating fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : noctuidae), progeny reduction when evaluating control achieved by host plant resistance. J. Econ. Entomol., 65, 482-483.
- LOERA J.P., POSTON F.L., WHITEWORTH R.J. (1980), Development of South Western cornborer as affected by a diet of selected corn plant tissues. Ann. Ent. Soc. Am., 73, 24-27.
- MILLER J.A., COOPER W.J., HIGHFILL J.W. (1982), Relationship between pupal size and egg production in reared female, *Antheraea polyphemus*. Ann. Ent. Soc., U.S.A., 75, 107-108.
- MUKERJEE P.K., ROY A.K., CHAKRABORTY N.G. (1983), Studies on the effect of pupal weight on fecundity and hatchability of multivoltine silkworm race, *Bombyx mori* L. Nat. Sem. Silk Res. & Dev., India, Bangalore, p. 28.
- NAGALAKSHMAMMA K. (1987), Investigations on some aspects of seed technology in eri silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval. M.Sc. thesis, Univ. of Agril. Sc., Bangalore, p. 84.

SUNDARARAJ N., NAGARAJU S., VENKATARAMU M.N., JAGANNATH M.K. (1972),
Design and analysis of field experiments. Univ. of Agril. Sc., Bangalore, India, p. 413.

IMPACT DU POIDS DE LA CHRYSALIDE SUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT DE LA DEUXIEME GENERATION CHEZ LA RACE INDIENNE NB₇ DU VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.)

B.L. VISWEWARA GOWDA, T.K. NARAYANASWAMY & R. MUNI RAJAPPA

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK Campus, Bangalore - 560 065, Inde.

Cette étude montre que le sex ratio est de 1:1.51 (mâles par rapport aux femelles) chez la race NB₇. Dans une population prise au hasard, la fréquence de chrysalides femelles moyennes et lourdes est plus forte que leur contrepartie par rapport aux femelles légères. Chez les chrysalides femelles, le poids varie de 1,0419 à 1,7108 g, alors que, chez les mâles, il va de 0,6847 à 1,4614 g. Les poids moyens mâle et femelle sont de 1,1507 g et de 1,0398 g.

Bien que l'effet principal du poids de la chrysalide n'influence pas la fécondité, l'interaction donne une augmentation significative de la fécondité en fonction du poids des chrysalides. On note une tendance similaire pour l'éclosion. L'augmentation du poids de la chrysalide femelle chez les parents détermine l'augmentation du poids larvaire. De même, les effets principaux et les interactions de divers poids de chrysalides mâles et femelles utilisées comme parents sont en relation directe avec le poids du cocon, le poids de la coque et la longueur de la bave. Le taux de survie est influencé seulement si le poids de la chrysalide femelle est élevé et quand des chrysalides moyennes sont utilisées pour la préparation des oeufs. Le denier est également uniquement influencé par les différences de poids des chrysalides femelles parentales, ce qui crée une relation directe entre le poids de la chrysalide femelle et le denier de la bave observé à la deuxième génération.

INTRODUCTION

Il est essentiel de choisir des graines vigoureuses et de qualité dans l'industrie séricicole. Pour mener à bien cette sélection rigoureuse, on a recours au triage des cocons : les cocons qui ne correspondent pas à la norme sont rejetés ; on choisit uniquement des cocons sûrs en tenant compte du poids de la chrysalide pour les paramètres du grainage. Les travaux précédents d'Ahsan et coll. (1976) chez *Antheraea mylitta*, de Miller et coll. (1982) chez *Antheraea polyphemus*, et de Mukerjee et coll. (1983) chez *Philosamia ricini* ont montré qu'il existe une corrélation positive entre le poids de la chrysalide femelle et le nombre total d'oeufs pondus. Aussi, la présente étude a été entreprise pour évaluer l'impact de divers poids de chrysalides sur la croissance et le développement chez le ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L.

MATERIELS ET METHODES

Les chrysalides des deux sexes sont pesées individuellement et réparties en trois catégories : chrysalides lourdes, moyennes, légères. Les papillons provenant de ces chrysalides sont croisés en combinaisons réciproques. De plus, on effectue parallèlement un contrôle statistique pour comparer les résultats. Le grainage a été poursuivi chez les papillons. L'expérience a été conduite afin d'évaluer la fécondité, le taux d'éclosion, la performance d'élevage et les paramètres post-cocons. A la

deuxième génération, la préparation des oeufs est faite en sélectionnant les cocons au hasard dans chaque catégorie de la génération parentale. On a adopté un système entièrement aléatoire pour dix traitements et quatre réplicats. Les données ont été traitées suivant l'analyse de variance bi-dimensionnelle (Sundarraj et coll., 1972).

Chaque réplicat comprend cinq pontes pour l'évaluation de la fécondité et de l'éclosion. En ce qui concerne la performance d'élevage, on a constitué un réplicat de 200 larves, sélectionnées au hasard après la deuxième mue. Pour l'évaluation des paramètres post-cocons, on a sélectionné au hasard cinquante cocons pour chaque réplicat.

RESULTATS ET DISCUSSION

La population sélectionnée au hasard de la race NB7 montre une proportion des sexes de 210 mâles pour 318 femelles (1:1,51). Dans une population sélectionnée au hasard de la génération parentale de la race de *B. mori* NB7, les femelles légères sont moins nombreuses (18,3 %) que les mâles légers (33,1 %). Tandis que la fréquence de chrysalides de poids moyen chez les femelles est légèrement plus élevée (56,8 %) que chez les mâles (55,4 %). Cependant, la fréquence de chrysalides lourdes chez les femelles (24,9 %) est beaucoup plus importante que chez les mâles (11,5 %). Chez les chrysalides femelles légères, moyennes et lourdes, le poids varie de 1,0419 à 1,1927 g, de 1,1928 à 1,4835 g et de 1,4836 à 1,7108 g, respectivement. De même, le poids des chrysalides mâles légères, moyennes et lourdes varie de 0,6847 à 0,9374 g, de 0,9375 à 1,0978 g et de 1,0979 à 1,4614 g, respectivement. Les poids moyens des chrysalides mâle et femelle est de 1,1607 g et 1,0398 g. En règle générale, les chrysalides femelles ont un poids plus lourd de 10,66 % que les chrysalides mâles.

L'effet principal du poids de la chrysalide, quel que soit le sexe, n'affecte pas de manière significative la fécondité chez la génération parentale. Cependant, l'interaction montre une variation significative de la fécondité : on a découvert que celle-ci augmente avec le poids larvaire (475,0 à 596,25 g). Par rapport au témoin, seuls les adultes émergeant de chrysalides mâles et femelles lourdes donnent une fécondité significativement plus élevée. Les observations ci-dessus sont conformes à celles de Kvaratskeliya (1955) qui a remarqué que le rendement en oeufs est plus élevé pour les cocons dont le poids moyen est plus lourd chez le ver à soie du mûrier. De même, Drooz (1964), Leuck et Perkins (1972), Boreyko (1972), Gahukar (1976), Fenemore (1979), Loera et coll. (1980) et Haukioja et coll. (1985) ont également observé que le poids de la chrysalide femelle et la fécondité sont fortement corrélés chez la chenille arpeuteuse de l'orme (*Ennomos subsignarius*), chez la chenille de la leucanie (*Spodoptera frugiperda*), chez *Laspeyresia pomonella*, *Ostrinia nubilalis*, *Pthorimoea operculella*, et chez la teigne des blés du sud-ouest *Epirrita autumnata*. Une tendance similaire a été observée entre le poids de la chrysalide et la fécondité chez des insectes séricigènes tels qu'*Antheraea mylitta* (Ahsan et coll., 1976), *A. polyphenous* (Miller et coll., 1982), *B. mori* L. (Mukarjee et coll., 1983) et *Samia cynthia ricini* (Nagalakshamma, 1987). Toutefois, il n'existe pas d'études sur la deuxième génération. Cette étude montre que, dans la génération suivante, la fécondité n'est pas affectée de manière significative par les différents poids des chrysalides mâles et femelles de la génération parentale (Figs. 1a et 1b).

En plus de son interaction avec les chrysalides femelles, la différence de poids chez les chrysalides mâles influence de manière significative l'éclosion des oeufs. Plus la chrysalide mâle est lourde, plus le pourcentage d'éclosion augmente, passant de 86,10 à 90,30 %. L'interaction montre une augmentation significative de l'éclosion des oeufs si le poids de la chrysalide augmente, indépendamment du sexe. On a découvert que le poids était beaucoup plus élevé chez les oeufs obtenus (93 %) par combinaison (lourd $\times$ lourd) que chez le témoin (89,8 %). Ces observations corroborent celles de Nagalakshamma (1987) qui a remarqué que le poids des chrysalides influence de façon significative le pourcentage d'éclosion des oeufs. On a découvert qu'il diminuait avec le poids des chrysalides. Un effet pratiquement identique a été remarqué à la deuxième génération en ce qui concerne l'éclosion des oeufs. Cependant, dans notre cas, tant dans la génération parentale que dans la deuxième génération, on observe que le poids de la chrysalide femelle n'influence pas l'éclosion des oeufs.

Le poids de la chrysalide femelle est en relation directe avec le poids larvaire. Une chrysalide femelle lourde entraîne de façon très nette un poids larvaire élevé (de 1,259 à 1,559 g). Au contraire,

l'influence du poids de la chrysalide mâle sur le poids larvaire est nulle. Cependant, l'interaction montre une variation positive du poids larvaire. Une chrysalide femelle lourde combinée avec un mâle de toute autre catégorie tend à augmenter le poids larvaire. Cependant, les larves de la combinaison "lourd $\times$ lourd" (1,633 g) donnent un meilleur résultat que le témoin (1,354 g) (Tableau I).

Le poids de la chrysalide chez la génération parentale influence le poids du cocon de manière évidente. L'augmentation du poids des chrysalides mâles de "léger" (1,115 g) à "moyen" (1,236 g) et "lourd" (1,199 g) donne une augmentation significative du poids du cocon à la deuxième génération. De même, l'augmentation du poids de la chrysalide femelle de "léger" à "lourd" se traduit par une augmentation du poids du cocon de 1,134 g à 1,301 g. L'interaction révèle que le poids du cocon s'accroît de manière significative à la deuxième génération si le poids des chrysalides mâles et femelles augmentent en même temps (de 1,046 à 1,415 g) (Tableau I). Une tendance presque identique a pu être observée en ce qui concerne le poids de la coque à la deuxième génération du fait de l'influence des poids des chrysalides utilisées à la génération parentale. Dans la combinaison "léger $\times$ léger", le poids de la coque est de 0,163 g, alors que celui-ci est nettement plus élevé (0,239 g) dans la combinaison "lourd $\times$ lourd". Par rapport au poids du cocon (1,128 g) et au poids de la coque (0,182 g) chez les témoins, ces paramètres sont supérieurs uniquement chez les combinaisons "lourd $\times$ lourd".

Le taux de survie à la deuxième génération ne semble pas être influencé par l'utilisation de chrysalides de poids différents pour la préparation des oeufs. Cependant, les chrysalides femelles de poids moyen donnent un taux de survie meilleur à la deuxième génération. Le pourcentage de survie varie de 86,75 à 96,0 (Tableau I).

La longueur de la bave augmente de manière significative avec l'utilisation de chrysalides de poids élevés chez la génération parentale lors de la préparation des oeufs. Cependant, on n'a pas remarqué de tendance très nette à l'amélioration. Toutefois, l'effet principal du poids de la chrysalide mâle a permis d'augmenter de manière significative la longueur de la bave de "léger" (694,96 m) à "moyen" (751,92 m) et "lourd" (746,37 m) (Tableau II).

On a remarqué que l'épaisseur de la bave augmente de manière significative si le poids de la chrysalide femelle augmente (de 2,1 à 2,4). Cependant, on remarque que l'effet du poids de la chrysalide mâle et son interaction avec les différents poids de chrysalides femelles sont nuls (Tableau II).

Le manque de documentation concernant l'influence du poids de la chrysalide sur la croissance et le développement de la deuxième génération rend difficile une comparaison critique. L'influence du poids de la chrysalide sur la fécondité et l'éclosion est très nette car elle est provoquée directement comme cela a été démontré pour différents insectes. L'augmentation de la croissance du poids de la chrysalide femelle chez la génération parentale détermine l'augmentation du poids larvaire à la deuxième génération. De même, le poids du cocon, le poids de la coque, la longueur de la bave et le denier sont déterminés par les différents poids des chrysalides femelles à la génération parentale, tenant lieu d'influence maternelle. L'utilisation de chrysalides femelles lourdes dans le grainage est recommandé pour prévenir une diminution du taux de survie. Cependant, on a remarqué que celui-ci est plus élevé quand on utilise des chrysalides de poids moyen dans la préparation des oeufs.

ISOLATION OF A POLYVOLTINE STRAIN WITH SEX-LIMITED LARVAL MARKINGS IN SILKWORM, *BOMBYX MORI* (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE)

J. NAGARAJU, V. PREMALATHA, RAVINDRA SINGH, M.K.R. NOMANI & M.S. JOLLY.

Central Sericulture Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampuram, Mysore
570 008, India.

A local polyvoltine race of Karnataka, Pure Mysore has been introduced with sex-limited larval markings from an inbred polyvoltine strain maintained in germplasm. F₂ generation was backcrossed and subsequently inbred up to BF₁₀ generation. The strain was also tested for hybrid forming ability with bivoltine males of KA, NB₇, and NB₁₈. Various economic characters such as differential viability of sexes, larval duration and other cocoon characters of both the inbred line and hybrids were studied. Economic utilization of this strain in sericulture industry is also discussed.

Keywords : Sex-limited, sex ratio, W-chromosome, back cross.

INTRODUCTION

In South India, Pure Mysore is used as a female parent to hybridize with the bivoltine male parental strains. Ninety per cent of the silk production is attributed to this hybrid popularly called "Improved Cross". Due to known genetic reasons (Nagatomo, 1926 ; Morohoshi, 1949 ; Nakada, 1972 ; Tazima, 1988) reciprocal cross of polyvoltine $\times$ bivoltine is quantitatively inferior and is not used for cocoon production on a commercial scale. In the preparation of the correct hybrids the separation of females from male individuals to avoid free mating between the individuals of the same parental variety constitutes the major item of the work in hybrid egg production. This separation is achieved by sexing the pupa or moths immediately after emergence, which renders 50 % of the male cocoons unfit for reeling. In this context the polyvoltine varieties with the characters which express only in one of the sexes (sex-limited) assume great significance and immense practical value to the egg producers. Hence, the present study was undertaken by the authors to introduce sex-limited larval markings to the basic stock of Pure Mysore, an indigenous race of Karnataka.

MATERIALS AND METHODS

Pure Mysore, a polyvoltine race indigenous to Karnataka was chosen for the introduction of the larval markings. The donor parent for the sex-limited larval markings is AP1 (SLA), an improved polyvoltine strain. Females of this strain was crossed to the males of Pure Mysore during Jan-Feb 1985 to obtain F₁ hybrids. All the females in the hybrid had normal markings whereas males were devoid of any markings. F₁ generation was advanced to F₂ through intermating of randomly chosen males and females from two mass replications. At F₂ generation 29 females were backcrossed to males of Pure Mysore and carried forward to nine generations through random mating of males and females. At each generation two mass replications were generated by pooling at least 50 eggs from each of the 15 layings. At BF₅ generation selection was carried out for individuals with uniform cocoon colour, shape, and other quantitative characters such as cocoon weight, shell weight and floss

content. Elite cocoons were intermated to raise BF₆. At BF₇ generation, three cellular families and two mass families were raised separately and continued up to BF₈ generation. Among cellular families, the best families which recorded the highest mean for survival rate for both males and females were selected and intermated. This selection was continued in the succeeding generations. At BF₇ generation, females of the sex-limited strain were crossed with males of three popular bivoltine strains viz., KA, NB₇ (Chinese types) and NB₁₈ (Japanese type) to test the hybrid forming ability and heterotic nature of the hybrids. The hybrids were reared in three replications. Data were collected sexwise for larval duration, survival rate, yield/10000 larvae by weight, single cocoon weight, shell weight, shell ratio, filament length and denier. Heterosis over mid parent (MP) and better parent (BP) was calculated by using the following formula :

$$\text{Heterosis over MP} = \frac{F_1 - \text{MP}}{\text{MP}} \times 100$$

$$\text{Heterosis over BP} = \frac{F_1 - \text{BP}}{\text{BP}} \times 100$$

RESULTS AND DISCUSSION

A silkworm strain with normal markings only on females was first produced by Dr. Tazima in 1941 as a result of X-ray irradiation. He found that, in the sex-limited strain, a part of second chromosome which lodged gene for larval markings was translocated to W-chromosome. Further, Tazima *et al.* (1951) obtained a silkworm strain in which a part of tenth chromosome containing dominant gene for egg colour was translocated to the W-chromosome. Sasaki (1953) later reported the viability of the sex-limited strains for the egg colour to be low. Hasimoto (1948), Kimura and Harada (1971) later produced sex-limited traits for zebra larval markings and cocoon colour. By making use of the sex-limited genetic stocks numerous sex-limited strains have been developed and many of them have been utilized successfully for cocoon production on a large scale. (Yamashita, 1978 ; Mano, 1984). In India, Sengupta (1968) transferred the larval markings to J₁₁₂ and C₁₁₀ bivoltine strains from the Sanish₁₈, a Russian sex-limited strain. In the present study one polyvoltine stock, AP1(SLA) developed at Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, was utilized as a donor parent for the sex-limited markings.

Performance of the sex-limited strain at different generations of breeding is given in Table I. It is clear from the table that the larval duration is 4 to 5 days shorter in the sex-limited strain as compared to that of Pure Mysore. Viability of males and females as indicated by yield/10,000 larvae by number shows that females are a little less viable as compared to males. Elsewhere (Nagaraju *et al.*, 1989) we show that in Pure Mysore also females are less viable as compared to males, in which case sex ratios of both normal and sex-limited strains have been obtained during different seasons and statistically tested for deviations from 50:50 ratio.

Strunnikov (1983) has also shown that males are more viable than the females in all stages of development and opines that the decreased viability of the females, especially in the poor ecological conditions that are usual in commercial rearing, may to a certain extent be due to the heterogamety of the female sex for the sex chromosome (ZW). This results in the lethal and sub-lethal genes on the Z-chromosome being in a hemizygous state in the female in contrast to the male. Studies conducted by the authors in normal and sex-limited strain indicated that even in normal cases where W-chromosome does not carry any translocated part of the autosome, females are also less viable as compared to that of males. As the females of the normal strain are not discernible, the exact rate of mortality goes unnoticed.

High mortality noticed by Iyengar *et al.* (1975) in the females of Pure Mysore sex-limited strain was not observed in the present study. This may be due to the fact that the mass rearing of egg samples from a large number of layings in the early generation of breeding in which desirable recombinants of viability genes were not lost, whereas the selection of cellular families with the highest family mean for survival in the later generations must have acted on improving this trait. Survival in silkworm

Table I. Pure Mysore (sex-limited) strain.

Tableau I. Souche Pure Mysore (avec marquage sexuel).

Parents : Ap1 (SL-A) × Pure Mysore

Parents : Ap1 (SL-A) × Pure Mysore

Back cross to Pure Mysore at F₂ generationCroisement de retour chez Pure Mysore à la génération F₂.

Season	Generation	Eggs / laying	Hatching (%)	Larval duration	Sex	Yield/10,000 larvae		Cocoon weight	Shell weight	Shell ratio	Floss (%)	5 th instar duration
						No.	Wt.					
Saison	Génération	Oeufs / ponte	Eclosion (%)	Durée larvaire	Sexe	Rendement / 10 000 larves		Poids cocon	Poids coque	Richesse soyeuse	Blaze (%)	Durée du 5 ^e âge
						Nb.	Pds.					
Jan.-Feb. 85	F ₁	600	98.6	24:23	F	9400	13.550	1.434	0.216	15.5	15.5	7:13
Jan./fév. 85					M	9700	1.750	1.210	0.208	16.7	11.5	
Mar.-Apr. 85	F ₂	620	98.0	23:20	F	6133	7.466	1.247	0.182	14.5	-	6:08
Mars./avr. 85					M	7146	7.066	1.020	0.215	21.0	-	
May-June 85	BC ₁	352	88.3	22:12	F	9640	13.800	1.431	0.200	13.9	9.3	6:12
Mai/juin 85					M	9560	11.000	1.150	0.180	15.6	13.4	
June-Aug. 85	BF ₂	494	93.3	23:20	F	8850	13.750	1.552	0.225	14.4	9.5	7:00
Juin/août 85					M	9050	11.000	1.214	0.203	16.6	10.8	
Sept.-Oct. 85	BF ₃	601	90.2	24:08	F	8725	11.575	1.328	0.177	13.6	12.9	7:08
Sept./oct. 85					M	9195	9.849	1.071	0.172	17.6	13.3	
Dec.-Jan. 85-86	BF ₄	601	90.2	24:08	F	9050	10.000	1.104	0.161	15.2	13.6	7:00
Déc./janv. 85/86					M	9350	9.000	0.962	0.163	17.8	11.6	
Feb.-March 86	BF ₅	511	82.8	23:06	F	8438	8.591	0.161	0.161	15.0	8.3	6:10
Fév./mars 86					M	8696	7.331	0.843	0.150	18.2	8.6	
Apr.-May 86	BF ₆	523	94.5	22:03	F	3547	4.257	1.181	0.139	14.3	9.0	6:02
Avr./mai 86					M	6113	4.860	0.792	0.156	18.6	9.8	
June-July 86	BF ₇	385	91.0	24:09	F	7561	9.434	1.225	0.183	14.9	13.7	7:01
Juin/juil. 86					M	7623	7.318	0.958	0.173	18.0	13.6	

Continued / Suite page suivante

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

Season <i>Saison</i>	Generation <i>Génération</i>	Eggs / laying <i>Oeufs / ponte</i>	Hatching (%) <i>Eclosion (%)</i>	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	Sex <i>Sexe</i>	Yield/10,000 larvae <i>Rendement / 10 000 larves</i>		Cocoon weight <i>Poids cocon</i>	Shell weight <i>Poids coque</i>	Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	Floss (%) <i>Blaze (%)</i>	5 th instar duration <i>Durée du 5^e âge</i>
						Nb.	Pds.					
Aug.-Sept. 86 <i>Août/sept. 86</i>	BF8	559	98.1	23:04	F	9227	13.127	1.422	0.218	15.3	-	7:00
					M	9049	10.076	1.113	0.214	19.2		
Oct.-Nov. 86 <i>Oct./nov. 86</i>	BF9	631	98.0	25:05	F	7155	9.514	1.320	0.192	14.5	11.1	7:01
					M	7760	8.014	1.029	0.186	18.3	11.1	
Dec.-Janv. 87 <i>Déc./janv. 87</i>	BF10	586	96.0	25:09	F	8138	10.285	1.265	0.180	14.1	12.5	6:14
					M	8541	8.587	1.003	0.165	16.3	13.3	

F : females / *femelles*.M : males / *mâles*.

Table II. Mean value of PM (SL) $\times$ bivoltine hybrids - June-July 1986.Tableau II. Valeur moyenne des hybrides PM (SL) $\times$ bivoltins - juin/juillet 1986.

Combination	Replication	Larval duration		Yield / 10,000 larvae		Cocoon weight	Shell weight	Shell ratio	Floss (%)	Filament length	Denier
Croisement	Réplicat	Durée larvaire		No.	Weight	Poids cocon	Poids coque	Richesse soyeuse	Blaze (%)	Longueur de la bave	Denier
				Rendement / 10 000 larves							
				Nb.	Poids						
PM (SL) $\times$ NB ₇	1	23:20	F	8960	14.800	1.651	0.314	19.0	6.6		
			M	9840	14.880	1.512	0.297	19.6	9.7	791	2.7
	2	25:00	F	8750	15.000	1.714	0.313	18.3	8.3		
			M	8320	12.800	1.538	0.304	19.7	7.2	905	2.3
	3	24:12	F	9760	18.000	1.844	0.306	16.5	5.8		
			M	9685	14.800	1.528	0.331	21.6	8.4	921	2.7
	Mean Moyenne	24:11	F	9656	15.930	1.736	0.311	17.9	6.9		
			M	9280	14.160	1.526	0.310	20.3	8.4	872	2.5
PM (SL) $\times$ NB ₁₈	1	24:00	F	6227	10.778	1.730	0.311	17.9	5.8		
			M	9870	14.935	1.513	0.337	22.2	7.0	877	2.4
	2	24:06	F	7299	12.408	1.699	0.290	17.0	5.7		
			M	4626	7.343	1.371	0.284	20.7	7.4	935	2.4
	Mean Moyenne	24:03	F	6763	11.593	1.714	0.300	17.5	5.7		
			M	7248	10.639	1.442	0.310	21.4	7.2	906	2.4

J. NAGARAJU ...

Continued / Suite page suivante

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

Combination	Replication	Larval duration	Yield / 10,000 larvae		Cocoon weight	Shell weight	Shell ratio	Floss (%)	Filament length	Denier	
<i>Croisement</i>	<i>Réplicat</i>	<i>Durée larvaire</i>	No.	Weight							
			<i>Rendement / 10 000 larves</i>		<i>Poids cocon</i>	<i>Poids coque</i>	<i>Richesse soyeuse</i>	<i>Blaze (%)</i>	<i>Longueur de la bave</i>	<i>Denier</i>	
			<i>Nb.</i>	<i>Poids</i>							
PM (SL) × KA	1	24:20	F	8923	15.769	1.767	0.282	15.9	6.7	891	2.3
			M	8700	13.841	1.590	0.301	18.3	7.0		
	2	24:06	F	9440	18.000	1.906	0.314	16.4	8.2	902	2.7
			M	9831	15.126	1.538	0.307	19.9	8.6		
	3	24:20	F	7600	13.600	1.789	0.285	15.9	6.6	674	3.3
			M	9360	14.800	1.581	0.319	20.1	6.8		
	Mean	24:15	F	8654	15.789	1.820	0.293	16.1	7.1	822	2.7
			M	9297	14.588	1.569	0.309	19.6	7.5		

SEX-LIMITED LARVAL MARKINGS IN *B. MORI*

Table III. Heterosis over mid parent and better parent values.

Tableau III. Hétérosis sur les valeurs des parents moyens et des meilleurs parents.

Combination	Larval duration	Yield / 10,000 larvae		Cocoon weight	Shell weight	Shell ratio	Floss (%)	Filament length	Denier
Combinaisons	Durée larvaire	No.	Wt.	Poids du cocon	Poids de la coque	Richesse soyeuse	Blaze (%)	Longueur de la bave	Denier
		Rendement / 10 000 larves							
		Nb.	Pds.						
PM (SL) × NB ₇									
MPV	+ 3.07	+ 17.61	+ 39.07	+ 9.96	+ 22.04	+ 4.39	- 16.48	+ 17.28	- 1.96
BPV	+ 6.34	+ 14.02	+ 13.49	+ 8.41	- 6.06	- 5.47	+ 65.21	- 10.71	+ 12.00
PM (SL) × NB ₁₈									
MPV	+ 2.20	+ 23.34	+ 45.99	+ 12.31	+ 15.96	+ 6.55	- 30.43	+ 28.96	- 40.42
BPV	+ 5.65	+ 77.11	+ 62.20	- 8.25	- 12.35	- 3.46	- 52.38	+ 1.22	- 41.66
PM(SL) × KA									
MPV	+ 4.78	+ 12.13	+ 29.69	+ 17.63	+ 18.27	+ 2.29	- 19.78	+ 3.85	+ 20.00
BPV	+ 8.83	+ 6.62	+ 0.92	- 5.31	- 9.06	- 3.26	+ 58.69	- 23.39	+ 22.75

is lowly heritable (Gamo, 1983). The traits which have low heritability could be improved only through family selection (Falconer, 1981). Hence, selection of cellular families with highest mean for survival was resorted to in this breeding programme.

Mean performance of sex-limited strain (female) $\times$ bivoltine (male) hybrids is presented in Table II. Heterosis over better parents and mid parental value is presented in Table III. All the combinations of hybrids registered high degree of heterosis both over mid parental and better parental values for survival rate and yield/10,000 larvae. Heterosis over better parental value ranged from 6 to 77 % for survival and 0.92 to 62 % for yield.

REFERENCES

- FALCONER D.S. (1981), Introduction to quantitative genetics. Sec. Edn., Longmans, London.
- GAMO T. (1983), Genetic analysis of growth rate, pupation rate and some quantitative characters by diallel analysis in silkworm. Jap. J. Breed., 179-180.
- HASIMOTO T. (1948), Sex-limited zebra, an X-ray mutation in the silkworm. J. Seric. Sci. Japan., 16.
- HIROBE T. (1969), Development of autosexing breeds in Japan. J.A.R.Q., 4(4), 42-45.
- IYENGAR M.N.S., GANESH N.K., TIKKOO B.L. (1975), Studies on the differential viability of sexes in the sex limited breeds of silkworm, *Bombyx mori*, in use in India. Ind. J. Seric., 14(1), 6-11.
- KIMURA K., HARADA C., AOKI H. (1971), Studies on the W chromosome translocation of yellow blood gene in the silkworm. Jap. J. Breed., 21, 199-203.
- MONO Y. (1984), Studies on the breeding of autosexing silkworm races in Japan. Sericologia, 24(3), 389-392.
- MOROHOSHI T. (1949), Developmental mechanism in *Bombyx mori*. Meibundo., Japan.
- NAGARAJU J., RAVINDRA SINGH, PREMALATHA V. (1989), Sex ratio in normal and sex-limited strains of silkworm, *Bombyx mori*. Current Science (in press).
- NAGATOMO T. (1926), On the sexlinked inheritance of quantitative characters in the silkworm, *Bombyx mori*. Nagakukaiho., 281.
- NAKADA T. (1972), Investigations of sex-limited hereditary cocoon weight in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Fac. Agri., Hokkaido. Univ., 57(1), 41-50.
- SASAKI S. (1953), On the recurrent mutation of the Gr gene in the silkworm (Ja). J. Seric. Sci. Jap., 22, 54.
- SENGUPTA K. (1968), Sex-limited characters in two races of silkworm, *Bombyx mori*. Ind. J. Seric., 1, 79-86.
- STRUNNIKOV V.A. (1983), Control of silkworm reproduction, development and sex. Mir Publishers, Moscow, 95.
- TAZIMA Y. (1988), A view on the improvement of Mysore breed. Int. Cong. Trop. Seric. A meeting report, Bangalore, India.
- TAZIMA Y. (1951), Separation of male and female silkworms in egg stage now becomes possible. Silk. Dig., Tokyo, 61, 1-3.
- TAZIMA Y. (1941), A simple method of sex discrimination by means of larval markings in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Japan., 12, 184-188.
- TAZIMA Y., HARADA C., OHTA N. (1951), On discrimination method by coloring genes in silkworm eggs. Jap. J. Breed., 1, 47-50.
- YAMASHITA Y. (1978), On the breeding of silkworm races J137, J131, J141, C137 and C141. Bull. Seri. Expt. Station, (Tokyo), 27(5), 595-636.

ISOLEMENT D'UNE SOUCHE POLYVOLTINE DE VER A SOIE *BOMBYX MORI* (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE) AVEC MARQUAGES LARVAIRES LIES AU SEXE

J. NAGARAJU, V. PREMALATHA, RAVINDRA SINGH, M.K.R. NOMANI, M.S. JOLLY.

Central Sericulture Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampuram, Mysore
570 008, Inde.

On a obtenu un marquage larvaire lié au sexe chez une race locale polyvoltine du Karnataka, Pure Mysore, à partir d'une souche polyvoltine conservée en consanguinité dans le stock génétique. Des croisements de retour ont été effectués sur la génération F₂ et élevés ensuite de façon consanguine jusqu'à la génération BF₁₀. La souche a également été testée pour sa capacité à donner des hybrides avec des mâles bivoltins KA, NB7 et NB18. Divers traits économiques tels que la viabilité différentielle des sexes, la durée larvaire ainsi que d'autres caractères du cocon des souches consanguines et hybrides ont été étudiés. La discussion porte aussi sur l'utilisation économique de cette souche dans l'industrie séricicole.

INTRODUCTION

Au sud de l'Inde, la race Pure Mysore est utilisée comme parent femelle pour l'hybridation avec des souches parentales mâles bivoltines. 90 % de la production sont obtenus par cet hybride appelé communément "croisement amélioré". Pour des raisons génétiques connues (Nagatomo, 1926 ; Morohoshi, 1949 ; Nakada, 1972 ; Tazima, 1988) le croisement réciproque entre multivoltins × bivoltins est quantitativement inférieur et n'est pas utilisé pour la production de cocons à l'échelle commerciale. Pour obtenir des hybrides de bonne qualité, la séparation des individus femelles et des individus mâles pour éviter l'accouplement entre individus de la même variété parentale constitue le point principal du travail dans la production d'oeufs hybrides. Cette séparation est obtenue en sexant les chrysalides ou les papillons immédiatement après l'émergence, ce qui donne 50 % de cocons mâles impropres au dévidage. Dans ce contexte, les variétés polyvoltines dont les caractères s'expriment seulement dans l'un des sexes ont une importance et un intérêt significatifs pour les producteurs d'oeufs. Cette étude a été réalisée par les auteurs pour introduire des marquages larvaires limités à un sexe chez la souche de base Pure Mysore, une race locale du Karnataka.

MATERIELS ET METHODES

La race locale du Karnataka Pure Mysore a été choisie pour l'introduction de marquages larvaires. Le parent donneur pour les marquages larvaires liés au sexe est AP1(SLA), une souche polyvoltine améliorée. Les femelles de cette souche ont été croisées avec des Pure Mysore en janvier-février 1985 pour obtenir des hybrides F₁. Toutes les femelles chez les hybrides avaient des marquages normaux alors que l'absence de marquage était notée chez les mâles. La génération F₁ a été accélérée jusqu'à F₂ par croisement entre des mâles et des femelles pris au hasard provenant de deux réplicats de masse. A la génération F₂, 29 femelles ont été rétrocroisées avec des mâles de Pure Mysore et ceci a été répété pendant neuf générations en accouplant au hasard des mâles et des femelles. A chaque génération on obtient deux réplicats de masse en groupant au moins 50 oeufs de chacune des quinze pontes. A la génération BF₅, une sélection individuelle est effectuée, portant sur la couleur

uniforme du cocon, la forme, ou d'autres traits quantitatifs tels que le poids du cocon, le poids de la coque, et le contenu en blaze. Les meilleurs cocons sont croisés entre eux pour produire la génération BF₆. A la génération BF₇, trois familles cellulaires et deux familles de masse ont été élevées séparément jusqu'à la génération BF₈. Parmi les familles cellulaires, les meilleures familles, celles qui enregistraient la moyenne de survie la plus élevée aussi bien chez les mâles que les femelles, ont été sélectionnées et rétrocroisées. Cette méthode a été utilisée pour les générations suivantes. A la génération BF₈, des femelles de la souche possèdent les marquages liés au sexe sont croisées avec des mâles provenant de trois souches bivoltines locales, à savoir : KA, NB₇ (type chinois) and NB₁₈ (type japonais) afin de tester la capacité à produire des hybrides et la nature hétérotique des hybrides. Les hybrides ont été élevés dans trois réplicats. Les données ont été relevées pour le sexe, la durée larvaire, le taux de survie, le rendement/10 000 larves, le poids du cocon, la richesse soyeuse, le poids de la coque, la longueur du filament et le denier. L'hétérosis des parents moyens (MP) et des meilleurs parents (BP) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Hétérosis sur MP} = \frac{F_1 - \text{MP}}{\text{MP}} \times 100$$

$$\text{Hétérosis sur BP} = \frac{F_1 - \text{BP}}{\text{BP}} \times 100$$

RESULTATS ET DISCUSSION

Une souche de vers à soie avec des marquages normaux sur les femelles seules a d'abord été obtenue par le Dr. Tazima en 1941 au moyen des rayons X. Il a découvert que, dans cette souche, une partie du deuxième chromosome qui comporte le gène pour les marquages larvaires a été transloqué au chromosome W. Plus tard, Tazima, Harada et Ohta (1951) ont obtenu une souche de vers à soie dans laquelle une partie du dixième chromosome contenant le gène dominant pour la couleur des graines était transloquée sur le chromosome W. Sazaki (1953) indiqua que la viabilité des souches ayant la couleur de l'oeuf liée au sexe était faible. Hasimoto (1948), Kimura et Nakada (1971) produisent ensuite une souche ayant un marquage larvaire zébré et la couleur de l'oeuf lié au sexe. En utilisant les lignées stock ayant des marquages liés au sexe, de nombreuses souches à caractères liés au sexe ont été développées et nombre d'entre elles ont été utilisées avec succès pour la production de cocons à grande échelle (Yamashita, 1978 ; Mano, 1984). En Inde, Sengupta (1968) a transféré les marquages larvaires de la souche Sanish 18, souche russe ayant un marquage lié au sexe, aux souches bivoltines J₁₁₂ et C₁₁₀. Dans notre étude, une souche polyvoltine AP1 (SLA), développée au Central Sericulture Research and Training Institute, Mysore, a été utilisée comme parent donneur pour le marquage lié au sexe.

Les performances obtenues aux différentes générations sont données dans le tableau I. Il est évident d'après le tableau que la durée larvaire est de 4 à 5 jours plus courte chez les souches à marquage sexuel comparé à la souche Pure Mysore. Comme l'indique le rendement pour 10 000 larves, les femelles sont un peu moins viables que les mâles. Nous montrons ailleurs (Nagaraju et coll., 1989) que les femelles de Pure Mysore sont aussi moins viables que les mâles. Dans ce cas, les ratios sexuels des souches normales et à marquage sexuel ont été obtenus au cours des diverses saisons et statistiquement testés quant à l'écart par rapport à 50:50.

Strunnikov (1983) a également montré que la viabilité des mâles est supérieure à celle des femelles aux différents stades du développement et pense que cette baisse de la viabilité des femelles, surtout dans les conditions écologiques pauvres qui sont habituelles dans l'élevage commercial, peut être due à l'hétérogamétie du sexe femelle pour le chromosome sexuel (ZW). Ceci tiendrait à des gènes létaux et sub-létaux sur le chromosome Z qui se trouveraient à l'état d'homozigotes chez la femelle et non chez le mâle. Les études conduites par les chercheurs chez les souches normales et à marquage sexuel indiquent que, même chez les cas normaux où le chromosome W ne porte aucune

partie transloquée d'un autosome, les femelles sont moins viables que les mâles. Les femelles des souches normales n'étant pas détectables, le taux réel de mortalité reste inconnu.

Le taux élevé de mortalité, signalé par Iyengar et coll. (1975) chez les femelles de la souche à marquage sexuel Pure Mysore, n'a pas été observé dans cette étude. Ceci est dû à l'élevage de masse des échantillons d'oeufs prélevés sur plusieurs pontes dans les générations précoces d'élevage et chez lesquels les recombinants souhaités des gènes de viabilité non pas été perdus et à la sélection des familles cellulaires détenant la moyenne de survie la plus élevée chez les générations suivantes, ce qui a amélioré ce caractère. La survie chez le ver à soie a un taux d'héritabilité faible (Gamo, 1983). Les caractères qui ont une faible héritabilité pourraient être améliorés seulement par la sélection des familles (Falconer, 1980). Aussi a-t-on eu recours à la sélection des familles cellulaires possédant la moyenne la plus élevée pour ce programme d'élevage.

La performance moyenne des hybrides obtenus par croisement de la souche à marquages sexuels (femelle) par les mâles bivoltins est donné au tableau II. L'hétérosis des meilleurs parents et des parents moyens est donnée dans le tableau III. Toutes ces combinaisons d'hybrides donnent un degré élevé d'hétérosis tant par rapport aux valeurs des parents moyens que des meilleurs parents en ce qui concerne le taux de survie et le rendement pour 10 000 larves. L'hétérosis par rapport à la valeur des meilleurs parents va de 6 à 77 % pour la survie et de 0.92 à 62 % pour le rendement.

EFFECTS OF INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA) ON THE POLYVOLTINE SILKWORM, THE PURE MYSORE BREED OF *BOMBYX MORI* L.

S.B. MAGADUM* & M.A. HOOLI**

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad 580003, India.

*The effects of topical application of 100, 200 and 300 ng/ml indole-3-acetic acid (IAA) on the larval and post-larval parameters were studied in the polyvoltine silkworm. Each concentration was administered independently, at the 36th hr to III, IV and V instars, at the 48th hr to IV and V instars and at the 72nd hr to V instar larvae. Amongst the various doses applied the repeated applications of 200 ng IAA at the 48th hr to IV and V instars resulted in a significant increase in the larval weight, silk gland weight, cocoon weight and cocoon shell weight in male and female as well as fecundity and in a significant decrease in the larval duration, cocooning and moth emergence percentages, when compared with the corresponding parameters of the untreated controls. The repeated applications of 200 ng IAA at the 48th hr to IV and V instars increased the cocoon weight by 19 % and the cocoon shell weight by 28 %. The result suggests that this dose may be used to increase silk production in the Pure Mysore breed of *B. mori*.*

Keywords : Indole-3-acetic acid, fecundity, cocoon, cocoon shell, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

It has been shown that feeding of the plant hormone, indole-3-acetic acid (IAA) along with the food plant, grass, significantly increased the fecundity and the number of viable eggs in the grasshopper, *Aulocara ellioti* (Neumann, 1982).

It is reported that the topical application of IAA reduced the size of the gonads, affected the germinal region of the gonads, reduced the number of sperm bundles and nurse cells and induced sterility in the fruitfly, *Dacus dorsalis* (Thakur and Mann, 1982 ; Thakur and Ashok Kumar, 1984). The feeding of host plants sprayed with IAA or dietary supplementation of the same is shown to affect the population (Castro and Rossetto, 1979), development and reproduction in aphids (Bur, 1985). The feeding of IAA along with artificial diet is shown to increase the body weight and feeding of the same along with the mulberry leaves or its topical application on the 2nd and 3rd days of IV instar larvae is shown to increase the larval weight and cocoon weight in the silkworm, *Bombyx mori* (Kamada and Ito, 1984). These reports suggest that the feeding of the host plants treated with or along with the plant hormones or the topical application of the plant hormones have varied effects on growth, development and reproduction in different insects.

However, there are no reports, except that of Kamada and Ito (1984), on the economic parameters of the silkworm, *Bombyx mori*. Therefore, in the present study the effect of plant hormone, IAA on the economic parameters of the tropical race, the Pure Mysore breed of *Bombyx mori*, is reported.

* Present address : Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570008, India.

** To whom correspondence should be addressed.

MATERIAL AND METHODS

The polyvoltine silkworms were reared following the improved method of silkworm rearing (Krishnaswamy, 1978). The worms were maintained on fresh K₂ variety of mulberry leaves. The third (III), fourth (IV) and fifth (V) instar larvae were grouped into three different experimental groups. Each group was further divided into sub-groups, each consisting of 20 worms of five replications as shown in Table I.

The indole-3-acetic acid (IAA) obtained from M/s British Drug House - Bombay, India - was first dissolved in a small quantity of acetone and then diluted to 100, 200 and 300 ng/ml solution in distilled water. The dilution was done in distilled water keeping in view its easy and practical use in sericulture, although IAA is sparingly soluble in water. The topical application was made with a small sterilized cotton ball. Each sub-group was topically applied with one of the three doses of IAA as shown in Table I. In each application 4 ml solution was used to treat 100 worms. Distilled water treated controls were maintained for each experimental group and common untreated controls were maintained for all the experimental groups. After the treatment, pre-cocooning and post-cocooning parameters were calculated. The mean values are shown in Tables II, III and IV. Each mean value is the average of 20 worms, 2 from each replication. The experiments were conducted twice to conclude the results.

The data collected were subjected to one way analysis of variance test to find out the significance between the parameters of the treatment groups and the corresponding parameters of the untreated controls (Raghava Rao, 1983). The per cent values of cocooning, moth emergence, male and female cocoon shell ratio were transformed into *sine* angular values for statistical analysis. The per cent index was calculated for each parameter of the experimental groups over the corresponding parameter of the untreated controls, the results are given in Tables II, III and IV.

RESULTS AND DISCUSSION

In the present study distilled water is used as a vehicle for IAA application although insect cuticle is known to be hydrophobic. Auxins, the plant hormones of which IAA is one, are suggested to act primarily to bring about softening and enlargement of the cell wall which then permits a passive osmotic uptake of water in plant tissues (Leopold, 1964).

It is not known whether the plant hormones have a similar softening effect on the soft untanned larval cuticle of *B. mori*. The results obtained in the present study, after treatment with IAA suggest that the IAA might have possibly penetrated the soft untanned larval cuticle of *B. mori*. However, this view needs to be confirmed by further study.

The data on the effect of treatment with IAA on the larval duration, larval weight, silk gland weight, female and male cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell ratio, cocooning percentage, moth emergence percentage and fecundity are summarized in Tables II, III and IV.

Larval duration :

The results of the present study showed that the larval duration decreased significantly in all the larval groups treated with IAA when compared with that of the untreated controls. Among the treatment groups a single application of IAA, irrespective of the concentrations, at 72 hr to V instar larvae resulted in a maximum decrease (42 hrs) of larval duration. The decreased larval duration observed in the present study might possibly be due to the increased synthesis of molting hormone, since the treatment with plant growth regulators is reported to alter the rate of synthesis of the insect molting hormone (Neumann, 1982).

Larval weight :

The larval weight significantly increased in all the larval groups treated with IAA when compared with that of the untreated controls. However, a maximum increase in the larval weight (24 %) occurred in the larvae treated with 200 ng IAA in group 2. The results obtained in the present study are in agreement with that reported for the Japanese race of *B. mori* in a similar treatment (Kamada and

Table I. Showing the plan of treatment with IAA to the silkworm larvae.

Tableau I. Plan du traitement à l'IAA des larves de vers à soie.

Groups <i>Groupes</i>	Treatment and dose ng/ml <i>Traitement et dose ng/ml</i>	Number of silkworms utilized for the treatment <i>Nombre de larves utilisées pour le traitement</i>	Time of application after the ecdysis <i>Heure d'application après l'ecdysis</i>	Application in instars <i>Application aux âges</i>			Total quantity of IAA applied <i>Quantité totale d'IAA administré</i>
				III <i>III</i>	IV <i>IV</i>	V <i>V</i>	
1	IAA100	100 (20 × 5)	36th hr	+	+	+	1.2 µg
	200	"	"	+	+	+	2.4 µg
	300	"	"	+	+	+	3.6 µg
	Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	"	"	+	+	+	
2	IAA 100	100 (20 × 5)	48th hr	-	+	+	0.8 µg
	200	"	"	-	+	+	1.6 µg
	300	"	"	-	+	+	2.4 µg
	Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	"	"	-	+	+	
3	IAA 100	100 (20 × 5)	72nd hr	-	-	+	0.4 µg
	200	"	"	-	-	+	0.8 µg
	300	"	"	-	-	+	1.2 µg
	Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	"	"	-	-	+	
	Untreated controls <i>Témoins non traités</i>	"	-	-	-	-	

(+) Indicates treatment / *Traitement effectué.*

(-) Indicates no treatment / *Absence de traitement.*

Table II. Effect of repeated applications of IAA at 36hr to III, IV and V instar silkworm larvae on larval weight, silk gland weight, larval duration, cocooning and moth emergence percentages, fecundity and cocoon parameters of *Bombyx mori*.

Tableau II. Effect des applications répétées d'IAA à 36 heures aux larves du IIIe, IVe et Ve âge sur le poids larvaire, le poids de la glande séricigène, la durée larvaire, les pourcentages de filage et d'émergence du papillon, la fécondité et les paramètres du cocon de *Bombyx mori*.

Treatment <i>Traitement</i>	Dose <i>Dose</i>	Larval weight <i>Pds. larvaire</i>	Silk gland weight <i>Pds. glande séricigène</i>	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	Cocooning <i>Filage</i>	Moth emergence <i>Emergence des papillons</i>	Fecundity <i>Fécondité</i>
	ng/ml	g	g	hr	%	%	N ^o
IAA	100	1.711*	0.428*	646*	90.0*	89.0*	332*
		(109)	(120)	(98)	71.87**	70.82**	(155)
IAA	200	1.866*	0.425*	646*	(93)	(92)	(155)
		(119)	(119)	(98)	92.0*	90.0*	364*
		(119)	(119)	(98)	73.90**	71.78**	(170)
IAA	300	1.864*	0.438*	646*	(95)	(93)	(170)
		(119)	(123)	(98)	93.0*	91.5*	320*
		(119)	(123)	(98)	75.08**	73.21**	(149)
Distilled water treated controls	D.W.	1.609	0.365	656	(96)	(94)	(149)
<i>Témoins traités</i>		(103)	(102)	(100)	95.0	96.0	209
		(103)	(102)	(100)	77.44**	78.16**	(98)
Untreated controls		1.564	0.356	656	(98)	(99)	(98)
<i>Témoins non traités</i>					97.0	97.0	214
					80.92**	80.39**	
SEM ±		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
		0.043	0.015	1.86	1.429	1.40	9.91
C.D. at 5 %		0.123	0.042	5.38	4;13	4.07	28.72

Continued / Suite page suivante

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

Treatment <i>Traitement</i>	Dose	Cocoon parameters / <i>Paramètres du cocon</i>					
		Female / <i>Femelle</i>			Male / <i>Mâle</i>		
		Cocoon. weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>
	ng/ml	g	g	%	g	g	%
IAA	100	0.898*	0.113*	12.59 20.75**	0.688	0.110	15.88 23.46**
		(114)	(116)	(101)	(109)	(115)	(107)
IAA	200	0.919**	0.177*	12.72 20.87**	0.669	0.105	15.58 23.24**
		(117)	(120)	(102)	(106)	(110)	(105)
IAA	300	0.926*	0.117*	12.62 20.78**	0.649*	0.101	15.61 23.23**
		(118)	(120)	(102)	(103)	(106)	(105)
Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	D.W.	0.854	0.106	12.31 20.61**	0.617	0.094	15.25 22.95**
		(109)	(109)	(99)	(98)	(99)	(103)
Untreated controls <i>Témoins non-traités</i>		0.783	0.097	12.38 20.55**	0.628	0.095	14.78 22.53**
		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SEM $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>		0.028	0.004	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
C.D. at 5 %		0.082	0.012				

* Significant at 5 % / *Significatif à 5 %.*** Angular transformed figures / *Transformées angulaires.*Per cent increase/decrease over that of untreated controls in parentheses / *Pourcentage d'augmentation/diminution sur les témoins non traités entre parenthèses.*N.S. : Non significant / *Non significatif.*

Table III. Effect of repeated applications of IAA at 48 hr to IV and V instar silkworm larvae on larval weight, silk gland weight, larval duration, cocooning and moth emergence percentages, fecundity and cocoon parameters of *Bombyx mori*.

Tableau III. Effet des applications répétées d'IAA à 48 heures aux larves du IV^e et du V^e âge sur le poids larvaire, le poids de la glande séricigène, la durée larvaire, le pourcentage de filage et d'émergence, la fécondité et les caractères du cocon de *Bombyx mori*.

Treatment <i>Traitement</i>	Dose <i>Dose</i>	Larval weight. <i>Pds. larvaire</i>	Silk gland weight. <i>Pds. glande séricigène</i>	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	Cocooning <i>Filage</i>	Moth emergence <i>Emergence des papillons</i>	Fecundity <i>Fécondité</i>
	ng/ml	g	g	hr	%	%	No
IAA	100	1.761*	0.374	622*	91.6* 73.43**	92.0* 73.90**	318*
		(112)	(105)	(95)	(94)	(95)	(147)
IAA	200	1.943*	0.424*	622*	93.3* 75.2**	91.0* 72.82**	376*
		(124)	(119)	(95)	(96)	(94)	(174)
IAA	300	1.902*	0.403*	622*	93.3* 75.4**	92.5* 74.53**	378*
		(121)	(113)	(95)	(96)	(95)	(175)
Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	D.W.	1.609	0.365	656	95.0 77.44**	96.0 78.16**	209
		(103)	(102)	(100)	(98)	(99)	(97)
Untreated controls <i>Témoins non traités</i>		1.564	0.356	656	97.0 80.92**	97.0 80.39**	215
		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SEM ± <i>Ecart type moyen ±</i>		0.041	0.014	2.413	1.142	1.841	18.83
CD at 5 %		0.119	0.042	6.99	3.308	5.331	54.54

Continued / Suite page suivante

Table III. (continued) / Tableau III. (suite)

Treatment <i>Traitement</i>	Dose <i>Dose</i>	Cocoon parameters / <i>Paramètres du cocon</i>					
		Female / <i>Femelle</i>			Male / <i>Mâle</i>		
		Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>
	ng/ml	g	g	%	g	g	%
IAA	100	0.954*	0.123*	12.88 21.02**	0.739*	0.119*	16.05* 23.59**
		(121)	(126)	(104)	(117)	(125)	(108)
IAA	200	0.981*	0.130*	13.25* 21.32**	0.710*	0.116*	16.35* 23.82**
		(125)	(134)	(107)	(113)	(122)	(110)
IAA	300	0.923*	0.122*	13.19 21.26**	0.645	0.106	16.34* 23.97**
		(118)	(125)	(106)	(102)	(111)	(110)
Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	D.W.	0.854	0.106	12.31 20.61**	0.617	0.094	15.25 22.95**
		(109)	(109)	(99)	(99)	(99)	(103)
Untreated controls <i>Témoins non traités</i>		0.783	0.097	12.38 20.55**	0.628	0.095	14.78 22.53**
		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SEM ± Ecart type moyen ±		0.029	0.004	0.236	0.028	0.005	0.364
CD at 5 %		0.083	0.011	0.684	0.081	0.014	1.055

* Significant at 5 % / *Significatif à 5 %.*** Angular transformed figures / *Transformées angulaires*Per cent increase/decrease over that of untreated controls in parentheses / *Pourcentage d'augmentation/diminution sur les témoins non traités entre parenthèses.*N.S. : Non significant / *Non significatif.*

Table IV. Effect of a single application of IAA at 72 hr to V instar silkworm larvae on larval weight, silk gland weight, larval duration, cocooning and moth emergence percentages, fecundity and cocoon parameters of *Bombyx mori*.

Tableau IV. Effet d'une seule application d'IAA à 72 h chez les larves du ver à soie au Ve âge larvaire sur le poids larvaire, le poids de la glande séricigène, la durée larvaire, les pourcentages de filage et d'émergence des papillons, la fécondité et les caractères du cocon de *Bombyx mori*.

Treatment <i>Traitement</i>	Dose <i>Dose</i>	Larval weight. <i>Pds. larvaire</i>	Silk gland weight. <i>Pds. glande séricigène</i>	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	Cocooning <i>Filage</i>	Moth emergence <i>Emergence des papillons</i>	Fecundity <i>Fécondité</i>
	ng/ml	g	g	hr	%	%	No.
IAA	100	1.803*	0.499*	192	84.4* 67.24**	90.0* 71.79**	289*
IAA	200	(115) 1.722*	(140) 0.484*	(82) 192	(87) 82.0* 68.58**	(93) 93.3* 75.41**	(144) 310*
IAA	300	(110) 1.816*	(135) 0.506*	(82) 192	(84) 90.0* 71.79**	(96) 94.0* 76.08**	(155) 296*
Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	DW	(116) 1.609	(142) 0.365	(82) 234	(92) 95.0 77.44**	(97) 96.0 77.96**	(148) 208
Untreated controls <i>Témoins non traités</i>	-	(103) 1.564	(102) 0.356	(100) 234	(98) 97.0 80.92**	(99) 97.0 80.39**	(104) 200
SEM ±		(100) 0.043	(100) 0.02	(100) 1.82	(100) 2.27	(100) 0.99	(100) 15.8
<i>Ecart type moyen ±</i> CD at 5 %		0.124	0.058	5.28	6.58	2.89	45.7

Continued / Suite page suivante

Table IV. (continued) / Tableau IV. (suite)

Treatment <i>Traitement</i>	Dose	Cocoon parameters / Paramètres du cocon					
		Female / Femelle			Male / Mâle		
		Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	Cocoon shell weight <i>Poids de la coque</i>	Cocoon shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>
	ng/ml	g	g	%	g	g	g %
IAA	100	0.844	0.115	13.63 21.83**	0.640	0.107	16.74 24.14**
		(107)	(118)	(110)	(99)	(112)	(113)
IAA	200	0.842	0.118	14.10 22.02**	0.669	0.113	16.89 24.44**
		(107)	(121)	(114)	(103)	(118)	(114)
IAA	300	0.856	0.118	13.83 21.76**	0.660	0.107	16.18 23.69**
		(109)	(121)	(112)	(102)	(112)	(109)
Distilled water treated controls <i>Témoins traités à l'eau distillée</i>	DW	0.854	0.106	12.31 21.61**	0.617	0.094	15.25 22.95**
		(109)	(109)	(99)	(95)	(99)	(103)
Untreated controls <i>Témoins non traités</i>		0.783	0.097	12.38 20.55**	0.648	0.095	14.78 22.53**
		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SEM ± <i>Ecart type moyen ±</i> CD at 5 %		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

* Significant at 5 % / *Significatif à 5 %.*

** Angular transformed figures / *Chiffres transformés angulaires.*

Per cent increase/decrease over that of untreated controls in parentheses / *Pourcentage d'augmentation/diminution sur les témoins non traités entre parenthèses.*

N.S. : Non significant / *Non significatif.*

Ito, 1984). The increased larval weight obtained in the present study might be due to the growth stimulating effect of IAA as suggested by Neumann (1982).

Silk gland weight :

The silk gland weight significantly increased in all the IAA treated larval groups, except in group 2 treated with 100 ng IAA, when compared with that of the untreated controls. The silk gland weight was maximum in the larvae treated with 300 ng IAA in group 3. The increased silk gland weight obtained in the present study might be due to the increased DNA synthesis in the silk gland or due to the general growth stimulating effect of IAA since the plant growth regulators are reported to alter the DNA synthesis in insects (Neumann, 1982).

Cocoon weight, cocoon shell weight :

The female cocoon weight and its cocoon shell weight significantly increased in all the sub-groups in group 1 and 2 treated with IAA when compared to the corresponding parameters of the untreated controls. In males the cocoon weight and its shell weight significantly increased in the larvae treated with 100 and 200 ng IAA in group 2 when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

The results of the present study suggest that the repeated applications of IAA in III, IV and V instars or in IV and V instars, in general, yield heavier cocoons and cocoon shells than those obtained with a single application of IAA in V instar. The results also suggest that with the repeated applications of IAA the per cent increase in the cocoon shell weight is always more than that of the cocoon weight in both sexes. The results confirm the report that the treatment with IAA increases the cocoon weight in *B. mori* (Kamada and Ito, 1984).

The increase/decrease in cocoon shell ratio is given in Tables II, III and IV.

Cocooning and moth emergence percentages :

The cocooning and moth emergence percentages significantly decreased in all the larval groups treated with IAA. The results therefore suggest that the mortality rate of larvae and pupae significantly increased after the treatment with IAA.

Fecundity :

Fecundity significantly increased in all the larval groups treated with IAA. However, a maximum increase in fecundity occurred with the repeated applications of 300 ng IAA at the 48th hr to IV and V instar larvae.

There is no significant difference in the parameters of distilled water treated controls when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

From the present study it is evident that a maximum of 28 % increase in the cocoon shell weight (average of both sexes) could be obtained with the repeated applications of 200 ng IAA at the 48th hr to IV and V instar larvae in the Pure Mysore breed of *B. mori*. Even after considering the decreased cocooning percentage after treatment with IAA there is a 23 % increase in the cocoon shell weight. Therefore, the repeated applications of IAA, at the above dose level and time may be utilized to increase the silk yield in the Pure Mysore breed of *B. mori*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author (S.B. Magadam) is grateful to the Member-Secretary - Central Silk Board, Government of India, Bangalore - for granting study leave. Our thanks are due to Dr. V.B. Nadkarni, Professor of Zoology - Kamatak University, Dharwad - for his encouragement and to Dr. R. Govindan - University of Agricultural Sciences, Dharwad - for providing facilities.

REFERENCES

- BUR M. (1985), Influence of plant hormones on development and reproduction of Aphids (Homoptera : Aphidinea-Aphididae). Entomol. Gener., 10, 183-200.
- CASTRO P. R. C., ROSSETTO C. J. (1979), The influence of growth regulators on Aphid infestation in cotton. Turrialboa. 22, 75-76.
- KAMADA M., ITO S. (1984), Growth promoting effect of plant hormones on silkworms. J. agric. chem. soc. Jpn., 58, 779-784.
- KRISHNASWAMY S. (1978), New technology of silkworm rearing. Bulletin N° 2, CSR and TI, Mysore, 1-24.
- LEOPOLD A. C. (1964), Plant hormones, in The hormones, ed. by G. Pincus, Academic Press, New York, vol. IV, 1-51.
- NEUMANN S. V. (1982), Plant growth hormones affect grasshopper growth and reproduction. Proc. 5th int. symp. insect. plant relationships, Wageningen, Pudoc, Netherlands, 57-62.
- RAGHAVA RAO D. (1983), Statistical techniques in agriculture and biological research. Oxford and IBH publishing Co., New Delhi.
- THAKUR J.N., ASHOK KUMAR (1984), Effects of 3 indole acetic acid on the fertility of the fruitfly, *Dacus dorsalis* (Hendel) (Diptera : Tephritidae). Natn. acad. sci. India, 7, 197-199.
- THAKUR J. N., MANN S. K. (1982), Effect of indole-3-acetic acid on histology of gonads and their development in *Dacus dorsalis* (Hendel). Experientia, 38, 490-492.

EFFET DE L'ACIDE 3-INDOL-ACETIQUE (AIA) SUR LES VERS A SOIE POLYVOLTINS DE LA SOUCHE PURE MYSORE DE *BOMBYX MORI* L.

S.B. MAGADUM* & M.A. HOOLI**

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad 580003, Inde.

*On a étudié l'effet de l'application topique d'acide 3-indol-acétique (AIA) à 100, 200 et 200 ng/ml sur les caractères larvaires et post-larvaires chez le ver à soie polyvoltin. On a administré chaque concentration de manière indépendante, à 36 h chez les larves du IIIe, IVe et Ve âge, à 48 h chez les larves du IVe et du Ve âge et à 72 h chez les larves du Ve âge. Parmi les différents dosages utilisés, les applications répétées d'AIA à 200 ng à 48 h chez les larves du Ve âge ont permis une augmentation significative du poids larvaire, du poids de la glande séricigène, du cocon et de la coque soyeuse chez les mâles et les femelles, de la fécondité et ont fait diminué de manière significative la durée larvaire, le filage et le taux d'émergence des papillons par rapport aux paramètres des témoins non-traités. Les applications répétées d'AIA à 200 ng à 48 h au IVe et au Ve âge augmentent le poids du cocon de 19 % et celui de la coque soyeuse, de 28 %. Les résultats suggèrent que ce dosage peut être utilisé pour améliorer la production de soie chez la souche Pure Mysore de *Bombyx mori*.*

INTRODUCTION

Il a été montré que le nourrissage par l'hormone végétale acide 3-indol-acétique (AIA) mélangée à la plante nourricière augmentait de manière significative la fécondité et le nombre d'oeufs viables chez la sauterelle *Aulocara ellioti* (Neumann, 1982). L'application topique d'AIA permettrait de réduire la taille des gonades, affecterait la région germinale des gonades et diminuerait le nombre de faisceaux spermatiques et de cellules nourricières et rendrait stérile la mouche *Dacus dorsalis* (Thakur et Mann, 1982; Thakur et Ashok Kumar, 1984). On a montré que le nourrissage par les plantes-hôtes sur lesquelles on a vaporisé de l'AIA ou l'addition de celui-ci au régime alimentaire affecte le peuplement (Castro et Rossetto, 1979), le développement et la reproduction chez les aphides (Bur, 1985). On a montré que le nourrissage par l'AIA mélangé au régime artificiel augmente le poids du corps et que le nourrissage par l'AIA mélangé aux feuilles de mûrier ou l'application locale AIA au 2e et au 3e jour du IVe âge augmente le poids larvaire et le poids du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori* (Kamada et Ito, 1984). Ces études suggèrent que le nourrissage avec des plantes hôtes traitées ou accompagnées d'hormones végétales ou l'application locale d'hormones végétales ont des effets divers sur la croissance, le développement et la reproduction chez différents insectes. Cependant, il n'existe aucune étude, hormis celle de Kamada et Ito (1984), sur les paramètres économiques du ver à soie *Bombyx mori*. Aussi, dans la présente étude, sont présentés les effets de l'hormone végétale AIA sur les paramètres économiques de la race tropicale Pure Mysore de *Bombyx mori*.

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

** Personne à contacter pour toute correspondance.

MATERIELS ET METHODES

Les vers à soie polyvoltins ont été élevés suivant la méthode améliorée d'élevage des vers à soie (Krishnaswamy, 1978). Les larves ont été nourries de feuilles de mûrier fraîches, de la variété K2. Les larves du troisième (III), quatrième (IV) et cinquième (V) âge ont été réparties en trois groupes expérimentaux distincts. Chaque groupe a ensuite été divisé en sous-groupes, composés de 20 vers de cinq réplicats chacun, comme indiqué au tableau I.

L'acide 3-indol-acétique (AIA) provenant de M/s British Drug House, Bombay, Inde, a été tout d'abord dissous dans une faible quantité d'acétone puis dilué dans l'eau distillée à 100, 200 et 300 ng/ml. La dilution a été effectuée dans l'eau distillée en raison de sa maniabilité en sériciculture, bien que l'AIA soit difficilement soluble dans l'eau. L'application locale a été faite avec une boule de coton stérilisée. On a appliqué à chaque sous-groupe, localement, l'une des trois doses d'AIA données au tableau I. Pour chaque application, on a utilisé une solution de 4 ml pour 100 larves. Chaque groupe expérimental a été comparé à un témoin traité à l'eau distillée, et l'ensemble des groupes expérimentaux a été comparé à un lot témoin non traité commun. Après le traitement, les paramètres pré- et post-filage ont été mesurés. Les valeurs moyennes sont données aux tableaux II, III et IV. Chaque valeur moyenne correspond à dix vers, 2 par réplicat. Les expériences ont été faites deux fois afin d'établir les résultats.

Les données recueillies ont été soumises au test de l'analyse de variance uni-dimensionnelle pour déterminer la signification des différences entre les paramètres des groupes traités et ceux des témoins non traités (Raghava Rao, 1983). Le pourcentage de filage, d'émergence des papillons, la richesse soyeuse des mâles et des femelles sont exprimés sous forme de valeurs angulaires en vue de l'analyse statistique. Le taux en pourcentage a été calculé pour chaque paramètre des groupes expérimentaux d'après le paramètre correspondant des témoins non-traités. Les résultats sont donnés dans les tableaux II, III et IV.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette étude, l'eau distillée est utilisée comme véhicule d'application de l'AIA, bien que la cuticule de l'insecte soit connue pour son hydrophobie. On a suggéré que les auxines, hormones végétales dont fait partie l'AIA, agissent de manière primaire pour adoucir et ouvrir le mur cellulaire qui permet alors une absorption osmotique passive d'eau dans les tissus végétaux (Leopold, 1964).

On ignore si les hormones végétales ont un effet adoucissant similaire sur la cuticule larvaire non tannée et molle de *Bombyx mori*.

Il est nécessaire de confirmer cette hypothèse par des études supplémentaires.

Les résultats concernant les effets du traitement à l'AIA sur la durée larvaire, le poids larvaire, le poids de la glande séricigène, le poids des cocons mâle et femelle, le poids de la coque, la richesse soyeuse, le pourcentage de filage, le pourcentage d'émergence des papillons et la fécondité sont donnés dans les tableaux II, III et IV.

Durée larvaire

Les résultats de cette étude montrent que la durée larvaire diminue de manière significative chez tous les groupes traités à l'AIA par rapport aux témoins. Parmi les groupes traités, une seule application d'AIA, indépendamment des concentrations, à 72 h au Ve âge a provoqué une diminution maximale (42 h) de la durée larvaire. Cette diminution pourrait être due à l'accroissement de la synthèse de l'hormone de mue, le traitement conjugué avec les régulateurs de croissance de la plante pouvant affecter le taux de synthèse de l'hormone de mue chez l'insecte (Neumann, 1982).

Poids larvaire

Le poids larvaire augmente de manière significative chez tous les groupes larvaires traités à l'AIA par rapport aux groupes témoins. Cependant, une augmentation maximale du poids larvaire (24 %) a été observée chez les larves du groupe II traitées avec de l'AIA à 200 ng. Les résultats obtenus dans cette étude corroborent ceux qui ont été obtenus avec la race japonaise de *B. mori* lors d'un

traitement similaire (Kamada et Ito, 1984). L'augmentation du poids larvaire obtenue dans cette étude pourrait être due à un effet stimulant de l'AIA sur la croissance, ainsi que le suggère Neumann (1982).

Poids de la glande séricigène

Le poids de la glande séricigène augmente de manière significative pour tous les groupes traités à l'AIA par rapport aux témoins non traités, sauf pour le groupe II, traité avec de l'AIA à 100 ng. Le poids larvaire maximum a été obtenu chez les larves traitées avec de l'AIA à 300 ng dans le groupe III. L'augmentation de la glande séricigène obtenue dans la présente étude pourrait être due à une augmentation de la synthèse d'ADN dans la glande séricigène ou à un effet stimulant de l'AIA sur la croissance générale, étant donné que les régulateurs de croissance de la plante pourraient affecter la synthèse d'ADN chez l'insecte (Neumann, 1982).

Poids du cocon, poids de la coque

Le poids du cocon et le poids de la coque chez la femelle augmentent de manière significative chez tous les sous-groupes des groupes I et II traités à l'AIA par rapport aux témoins non traités. Pour les mâles, le poids du cocon et le poids de la coque augmentent de manière significative chez les larves traitées avec de l'AIA à 100 et 200 ng par rapport aux témoins non traités.

Les résultats de la présente étude suggèrent que des applications répétées d'AIA aux 3e, 4e et 5e âges ou aux 4e et au 5e âges, en général, permettent d'obtenir des cocons et des coques plus lourds qu'avec une seule application d'AIA au 5e âge. Les résultats supposent également qu'avec des applications répétées d'AIA le pourcentage d'augmentation du poids de la coque est toujours plus élevé que celui du poids du cocon chez les deux sexes. Ces résultats confirment que le traitement à l'AIA permet une augmentation du poids du cocon chez *Bombyx mori* (Kamada et Ito, 1984).

Le taux d'augmentation/diminution de la richesse soyeuse est donné aux tableaux II, III et IV.

Pourcentage de filage et d'émergence des papillons

Le pourcentage de filage et d'émergence des papillons diminue de manière significative chez tous les groupes larvaires traités à l'AIA. Les résultats suggèrent donc que le taux de mortalité de la larve et de la chrysalide a augmenté de manière significative après le traitement à l'AIA.

Fécondité

La fécondité décroît de manière significative chez tous les groupes traités à l'AIA. Cependant, on note une augmentation maximale de la fécondité avec des applications répétées d'AIA à 48 h aux larves du 4e et du 5e âge.

Il n'y a pas de différence significative entre les paramètres des témoins traités à l'eau distillée et ceux des témoins non traités.

Il ressort de la présente étude que l'on peut obtenir une augmentation maximale du 28 % de poids de la coque (moyenne des deux sexes) par des applications répétées d'AIA à 200 ng à 48 h aux larves du 4e et du 5e âge de la race Pure Mysore de *Bombyx mori*. Bien que le pourcentage de filage diminue après le traitement à l'AIA, le poids de la coque augmente de 23 %. Aussi, peut-on effectuer des applications répétées d'AIA aux doses indiquées ci-dessus pour améliorer le rendement en soie chez la race Pure Mysore de *B. mori*.

INCREASE IN SILK PRODUCTION AFTER REPEATED APPLICATIONS WITH JUVENILE HORMONE ANALOGUE, MANTA, FOLLOWED BY INSULIN IN THE PURE MYSORE BREED OF *BOMBYX MORI* (L).

S.B. MAGADUM* & M.A. HOOLI**

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad 580 003, India.

The repeated topical applications with a synthetic juvenile hormone analogue, Manta, in III and IV instars, at the 36th hr after the 2nd and 3rd ecdysis respectively, followed by insulin in V instar, at the 72nd hr after the 4th ecdysis, significantly increased the larval duration, larval weight, silk gland weight, female and male cocoon weights and their shell weights and egg productivity and significantly decreased the cocooning and moth emergence percentages in B. mori. The female and male cocoon weights increased after treatment with Manta followed by insulin by 25 and 20 % and their cocoon shell weights by 32 and 35 % respectively.

Keywords: Juvenile hormone analogue, Manta, insulin, egg productivity, cocoon, cocoon shell, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

It was first reported by Akai and Kobayashi (1971) that the administration of juvenile hormone (JH) prolongs the larval duration and results in a significant increase in cocoon weight and cocoon shell weight in *B. mori* (Akai *et al.*, 1971). Since then several investigators have shown that the treatment with JH-analogues including Manta increased the larval duration (Akai *et al.*, 1973; Kobari and Akai, 1978; Shigematsu, 1978; Kamada *et al.*, 1979; Shibukawa and Akai, 1981; Washida, 1984) larval weight (Shimada *et al.*, 1979; Krishnaswamy *et al.*, 1981), silk gland weight and its proteins, amino acids and nucleic acid content (Shigematsu, 1978; Shigematsu *et al.*, 1978; Wu *et al.*, 1978; Shimada *et al.*, 1979; Chen *et al.*, 1982), cocoon weight and cocoon shell weight (Amori *et al.*, 1977; Kobari and Akai, 1978, 1979; Kamada *et al.*, 1979; Krishnaswamy *et al.*, 1981; Akai *et al.*, 1985) and egg productivity (Kimura *et al.*, 1986) in different races of Japanese silkworms. Occurrence of insulin-like peptides has been reported and it is suggested that the vertebrate insulin may stimulate growth, lipid mobilization, sugar uptake and cellular internalization in insects and other invertebrates (Kramer, 1983). Recent studies have shown that the treatment with insulin improves the pre-cocooning and some of the post-cocooning parameters of the silkworm (Magadum and Hooli, 1989). These reports suggest that the economic parameters of the silkworm are improved after treatment with JH-analogues or insulin.

However, there are no reports on the effect of JH-analogues when applied in combination with insulin or other hormones on the economic parameters of silkworms. Therefore, in the present study the effect of repeated applications with Manta followed by insulin on the economic parameters of the polyvoltine breed of *B. mori* is reported.

* Present address : Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, India.

** Address for correspondence.

MATERIALS AND METHODS

The polyvoltine silkworms, reared in the laboratory following the improved method of silkworm rearing (Krishnaswamy, 1978), were used in the present study. The third (III), fourth (IV) and fifth (V) instar larvae were grouped into three different experimental groups. Each group consisted of 20 worms of five replications (100 worms). Manta (M/s. Otsuka Pharmaceuticals Ltd., Osaka, Japan, a free gift from Dr. H. Nishimura, IA Co-op E. Association, Tokyo) the synthetic insulin IP40 (M/s. Boots Company Pvt. Ltd., Bombay, India) were diluted in distilled water to form 4 µg/ml and 1 IU/ml solutions respectively. The larvae in group 1 were topically applied with Manta in III and IV instars at the 36th hr after the second and third ecdysis respectively, followed by insulin in V instar at the 72nd hr after the fourth ecdysis. The larvae in this group (100 worms) received a total of 8 ml (32 µg) Manta and 4 ml (4 I.U.) insulin. The larvae in group 2 were treated only with Manta as in group 1 and those in group 3 were treated only with insulin as in group 1 and served as Manta treated and insulin treated controls respectively. The larvae in group 2 received a total of 8 ml (32 µg) Manta and those in group 3 received a total of 4 ml (4 I.U.) insulin. Appropriate distilled water treated (group 4) and untreated controls (group 5) were also maintained.

After the treatment the pre-cocooning parameters such as larval duration, larval weight and silk gland weight and the post-cocooning parameters such as cocooning and moth emergence percentages, female and male cocoon weights and their shell weights and egg productivity were calculated and the mean values of the results are shown in Table I. Each mean value is the average reading from 10 worms, 2 from each replication. The larval duration and larval weight was taken at the end of the last larval instar. The silk gland weight was taken just before the commencement of spinning activity at the end of the last larval instar. The data collected were subjected to one way analysis of variance test to find out the significance between the corresponding parameters of the treated groups and the untreated controls (Raghava Rao, 1983). The per cent values for cocooning percentage, moth emergence percentage and female and male cocoon shell ratio were transformed into sine angular values for statistical analysis. The per cent index value was calculated for each parameter of the experimental groups over the corresponding parameters of the untreated controls. The data collected on the effects of treatment with Manta followed by insulin on the parameters studied are summarised in Table I.

RESULTS AND DISCUSSION

Larval duration and larval weight

The results indicate that the larval duration and larval weight significantly increased after treatment with Manta or Manta followed by insulin. The treatment with Manta has been reported to increase the larval duration thereby extending the feeding period which results in increased larval weight (Kobari and Akai, 1978 ; Washida, 1984). The treatment with insulin, on the contrary, has shortened the larval duration but increased the larval weight in the present study as well as in the earlier report (Magadum and Hooli, 1989), which is suggested to be due to the growth stimulating effect of insulin on the larvae (Kramer, 1983). The effect of Manta and insulin on the larval duration are antagonistic when applied individually. The results of the present study suggest that the shortening effect of insulin on the larval duration is overcome when it is administered to V instar larvae which were treated earlier with Manta in III and IV instars.

Silk gland weight

The silk gland weight significantly increased after treatment with Manta followed by insulin and also after treatment with Manta or insulin. Similar results are reported after treatment with JH or JH-analogues in Japanese races of silkworms (Akai and Kobayashi, 1971 ; Akai *et al.*, 1973 ; Shigematsu, 1978 ; Shimada *et al.*, 1979). The increase in silk gland weight after treatment with Manta or Manta followed by insulin might be due to the increased synthetic activity of the silk gland, since the treatment with JH or JH-analogues is reported to increase the silk protein synthesis, replication of DNA and accumulation of RNA in the silk gland (Akai *et al.*, 1971 ; Amori *et al.*, 1977 ; Chen *et*

Table I. Effects of repeated applications with Manta at the 36th hr after ecdysis in III and IV instars followed by insulin at the 72nd hr after ecdysis in V instar larvae in *B. mori*.

Tableau I. Effets des applications répétées de Manta 36 heures après l'ecdysis au 3^{ème} et 4^{ème} âges larvaires suivies d'insuline 72 heures après l'ecdysis au 5^{ème} âge larvaire chez *B. mori*.

Groups Treatment	Larval duration (hr)	Larval weight (g)	Silk gland weight (g)	Egg productivity (No)	Cocooning percentage	Moth emergence percentage
Groupes Traitement	Durée larvaire (h)	Poids larvaire (g)	Poids glande séricigène (g)	Productivité en oeufs (No)	Pourcentage de filage	Emergence des papillons (%)
1 Manta + Insulin / Insuline	666* (102)	2.023* (122)	0.550* (135)	500* (128)	86.0* (68.09)** (91)	85.0* (67.36)** (92)
2 Manta (controls) (Témoins)	660* (102)	1.990* (120)	0.475* (117)	439* (112)	90.0* (71.67)** (96)	94.0* (75.91)** (102)
3 Insulin / Insuline (controls) (Témoins)	638* (98)	2.0033* (122)	0.492* (121)	463* (118)	84.0* (66.28)** (89)	88.0* (69.96)** (96)
4 Distilled water (controls) / Témoins eau distillée	652 (100)	1.783 (107)	0.428 (105)	377 (97)	93.0 (74.73)** (99)	90.0 (71.60)** (98)
5 Untreated (controls) / Témoins non-traités	652 (100)	1.662 (100)	0.406 (100)	390 (100)	94.0 (75.91)** (100)	92.0 (73.63)** (100)
SEM ±	3.98	0.044	0.014	11.675	0.596	0.653
CD at 5%	11.27	0.124	0.039	33.018	1.687	1.846

* Significant at 5% / Significatif à 5 %.

** Angular transformed figures / Transformées angulaires.

Per cent increase/decrease in the parameters of the treated groups over that of the corresponding parameters of the untreated controls in parenthesis.

Pourcentage augmentation/diminution des paramètres des groupes traités par rapport aux paramètres correspondants des témoins non traités entre parenthèses.

SEM - Standard error mean / Ecart type moyen.

CD - Critical difference / Différence critique.

Continued / Suite page suivante

Table I (continued). Effects of repeated applications with Manta at the 36th hr after ecdysis in III and IV instars followed by insulin at the 72nd hr after ecdysis in V instar larvae in *B. mori*.

Tableau I (suite). Effets des applications répétées de Manta 36 heures après l'ecdysis aux 3^{ème} et 4^{ème} âges larvaires suivies d'insuline 72 heures après l'ecdysis au 5^{ème} âge larvaire chez *B. mori*.

Groups	Treatment	Female cocoon weight (g)	Female cocoon shell weight (g)	Female cocoon shell ratio (%)	Male cocoon weight (g)	Male cocoon shell weight (g)	Male cocoon shell ratio (%)
Groupes	Traitement	Poids cocon femelle (g)	Poids coque femelle (g)	% richesse soyeuse (f)	Poids cocon mâle (g)	Poids coque mâle (g)	% richesse soyeuse (m)
1	Manta + Insulin / <i>Insuline</i>	1.293* (125)	0.163* (132)	12.50 (20.89)** (103)	0.994* (120)	0.153* (135)	15.27 (22.97)** (111)
2	Manta (controls) (<i>Témoins</i>)	1.105 (106)	0.130 (106)	11.76 (19.99)** (99)	0.830 (101)	0.121 (107)	14.53 (22.59)** (106)
3	Insulin / <i>Insuline</i> (controls) / (<i>Témoins</i>)	1.161* (112)	0.137* (111)	11.89 (20.14)** (100)	0.845 (102)	0.126 (111)	13.20 (22.91)** (111)
4	Distilled water (controls) / (<i>Témoins</i>) <i>eau distillée</i>	1.021 (98)	0.123 (100)	11.97 (20.19)** (101)	0.831 (101)	0.115 (102)	13.87 (21.65)** (101)
5	Untreated (controls) / (<i>Témoins</i>) <i>non-traités</i>	1.037 (100)	0.123 (100)	11.89 (20.13)** (100)	0.823 (100)	0.113 (100)	13.74 (21.73)** (100)
	SEM ±	0.038	0.005	N.S	0.022	0.004	N.S
	CD at 5%	0.108	0.014		0.064	0.012	

N.S. : Non significant / *Non significatif*

* Significant at 5% / *Significatif à 5 %*.

** Angular transformed figures / *Transformées angulaires*.

Per cent increase/decrease in the parameters of the treated groups over that of the corresponding parameters of the untreated controls in parenthesis.

Pourcentage augmentation/diminution des paramètres des groupes traités par rapport aux paramètres correspondants des témoins non traités entre parenthèses.

SEM - Standard error mean / *Ecart type moyen*.

CD - Critical difference / *Différence critique*.

al., 1982). The increase in silk gland weight after treatment with insulin might be due to the stimulatory effect of insulin on the synthetic activity of the silk gland as suggested by Kramer (1983).

Egg productivity

The number of eggs laid was increased in all the hormone treated groups. However, a maximum increase (28 %) occurred after treatment with Manta followed by insulin. However, the hatchability of the eggs has not been studied.

Cocooning and moth emergence percentages

The cocooning and moth emergence percentages significantly decreased in all the hormone treated groups except for moth emergence percentage in the Manta treated groups in which it is improved as compared to that of the untreated controls. These results, in general suggest that the mortality rate of larvae and pupae increased after treatment with Manta followed by insulin or insulin.

Female and male cocoon weights and their shell weights

The female and male cocoon weights and their shell weights increased significantly after treatment with Manta followed by insulin and also after treatment with insulin except for the male cocoon weight after treatment with insulin. The treatment with Manta had no significant effect on these parameters. The results of the present study suggest that the treatment with Manta followed by insulin yields heavier cocoons and cocoon shells in both the sexes than those obtained after treatment with Manta or insulin.

The increase/decrease in male and female cocoon shell ratio is given in Table I.

There was no significant difference in the parameters of the distilled water treated controls when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

From the present study (Table I) it is evident that there is 33.5 % increase in the cocoon shell weight (average of both sexes) after treatment with Manta followed by insulin. Even after taking into consideration the decreased cocooning percentage, there is 22.0 % (average of both sexes) increase in the cocoon shell weight when compared with that of the untreated controls. The treatment with Manta followed by insulin has increased the fecundity by 28 % as compared to that of the untreated controls. Hence it is suggested that the treatment with Manta followed by insulin may be utilized to increase silk production as well as egg production in the tropical race, the Pure Mysore breed of *B. mori*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author (S.B.M) is grateful to the Member Secretary - Central Silk Board, Government of India, Bangalore - for granting study leave. Our thanks are due to Prof. V.B. Nadkarni, Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad, for his encouragement and to Dr. R. Govindan, University of Agricultural Sciences, Dharwad, for providing facilities.

REFERENCES

- AKAI H., KOBAYASHI M. (1971), Induction of prolonged larval instar by the juvenile hormone in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Appl. Ent. Zool., 6, 138-139.
- AKAI H., KIUCHI K., MORI K. (1971), Increased accumulation of silk protein accompanying JH-induced prolongation of larval life in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). App. Ent. Zool., 6, 218-220.
- AKAI H., KIGUCHI K., MORI K. (1973), The influence of juvenile hormone on the growth and metamorphosis of *Bombyx mori* larvae. Bull. Sericul. Expt. Stat., 25, 287-305.
- AKAI H., KIMURA K., KIUCHI M., SHIBUKAWA A. (1985), Increase of silk production by repeated treatment with a juvenile hormone analogue. J. Seric. Sci. Jpn., 54, 297-299.
- AMORI S., OZAWA Y., NISHIMURA M. (1977), Timely administration of synthetic compounds with the juvenile hormone activity to silkworm larvae reared on an artificial diet. J. Seric. Sci. Jpn., 46, 69-76.

CHEN E.Y., FENG H., GUO F. (1982), Effects of juvenile hormone analogue on the protein content and development of silkgland in the 5th instar silkworm. *Insect Knowledge.*, 19, 25-28.

KAMADA A., SHIMADA S., ASANO S. (1979), Studies on utilization of methoprene, a synthetic compound with juvenile hormone activity for silkworm rearing : I. Effect on the development of fifth instar larvae. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 48, 129-136.

KIMURA K., KIUCHI M., AKAI H. (1986), Effect of JH-analogue and anti JH treatments on the number and size of the silkworm eggs. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 55, 335-337.

KOBARI Y., AKAI H. (1978), Utilization of Manta (Synthetic compound with juvenile hormone activity) for the silkworm rearing. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 47, 315-319.

KOBARI Y., AKAI H. (1979), On quantitative increase of silk production by the administration of juvenile hormone (Manta). *J. Seric. Sci. Jpn.*, 48, 37-42.

KRAMER K.J. (1983), Vertebrate hormones in insects. In "Comparative Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology". (KIRKUT G.A. and GILBERT L.I. - Eds. Pergemon Press., London, New York), Vol. VII, p. 511-535.

KRISHNASWAMY S. (1978), Improved method of rearing young age (Chawki) silkworms. *Bulletin No. 3, CSRTI, Mysore*, 1-27.

KRISHNASWAMY S., BENCHAMIN K.V., RAGHURAMAN R., GEETADEVIR.G. (1981), Studies on the effect of Juvenile Hormone analogue, ZR512, in silkworm, *Bombyx mori* L., to improve silk yield. *Proc. Symp. and Seminar on Sericulture*, T. N. Agri. Univ. Coimbatore, 124-129.

MAGADUM S.B., HOOLI M.A. (1989), Effect of insulin on the polyvoltine silkworm, the Pure Mysore breed of *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 29(1), 17-27.

RAGHAVA RAO D. (1983), "Statistical techniques in agriculture and biological research". Oxford and I.B.H. Publishing Co., New Delhi.

SHIBUKAWA A., AKAI H. (1981), Effect of Manta on the silk production of a silkworm race producing heavy cocoon shells. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 50, 73-76.

SHIGEMATSU H. (1978), The nature of juvenoid effects on growth and changes of protein, aminoacids and nucleic acid content in silkworm, *Bombyx mori* - on the case of application of excessive dose. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 47, 292-300.

SHIGEMATSU H., KURATA E., TAKESHILA H. (1978), Nucleic acid accumulation of silkgland of *Bombyx mori* in relation to silk protein. *Comp. Biochem. and Physiol. B.*, 61, 237-242.

SHIMADA S., KAMADA A., ASANO S. (1979), Studies on the utilization of methoprene, a synthetic compound with juvenile hormone activity, for the silkworm rearing : II. An aspect of silk formation in the silkworm, *Bombyx mori*, applied with methoprene examined by vital staining with thionin. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 48, 282-286.

WASHIDA S. (1984), Influence of Juvenile hormone analogues applied at fourth instar on larval growth and cocoon weight in *Bombyx mori*. *J. Sci. Jpn.*, 53, 210-215.

WU T.N., HU C.Y., QUO F. (1978), Effect of juvenile hormone analogue on the nucleic acid metabolism on the posterior silkgland in silkworm, *Bombyx mori* L. *Acta Entomologica Sinica.*, 21, 290-296.

AUGMENTATION DE LA PRODUCTION DE SOIE APRES DES APPLICATIONS REPETEES D'ANALOGUE D'HORMONE JUVENILE MANTA PUIS D'INSULINE CHEZ LA SOUCHE PURE MYSORE DE *BOMBYX MORI* (L.)

S. B. MAGADUM* & M. A. HOOLI**

Departement of Zoology, Karnatak University, Dharwad 580 003. Inde.

Les applications topiques répétées avec un analogue d'hormone juvénile synthétique Manta aux 3ème et 4ème âges larvaires, 36 h après la 2ème et la 3ème ecdysis respectivement, puis d'insuline au 5ème âge 72 h après la 4ème mue augmentent de manière significative la durée de la période larvaire, le poids larvaire, le poids de la glande séricigène, le poids des cocons mâles et femelles ainsi que le poids de la coque et la productivité en oeufs et diminuent considérablement les pourcentages de filage du cocon et d'émergence des papillons chez B. mori. Le poids des cocons mâles et femelles augmente lorsque ceux-ci sont traités avec l'analogue Manta et l'insuline de 25 et 20 % respectivement et le poids de la coque de 32 et 35 %.

INTRODUCTION

Il a été démontré pour la première fois par Akai et Kobayashi (1971) que l'injection d'hormone juvénile (JH) prolonge la période larvaire et a pour conséquence une augmentation significative du poids du cocon et de celui de la coque chez *B. mori*. Dès lors, plusieurs chercheurs ont montré que le traitement avec la JH ainsi que des analogues, Manta y compris, a pour effet d'augmenter la période larvaire (Akai et coll., 1973 ; Kobari et Akai, 1978 ; Shigematsu, 1978 ; Kamada et coll., 1979 ; Shibukawa et Akai, 1981 ; Washida, 1984), le poids larvaire (Shimada et coll., 1979 ; Krishnaswamy et coll., 1981) le poids de la glande séricigène et ses protéines, les contenus en acides aminés et en acides nucléiques (Shigematsu, 1978 ; Shigematsu et coll., 1978 ; Wu et coll., 1978 ; Shimada et coll., 1979 ; Chen et coll., 1982) le poids du cocon et celui de la coque (Amori et coll., 1977 ; Kobari et Akai, 1978, 1979 ; Kamada et coll., 1979 ; Krishnaswamy et coll., 1981 ; Akai et coll., 1985) et la productivité en oeufs (Kimura et coll., 1986) chez divers races de vers à soie japonais. La présence de peptides similaires à l'insuline a été démontrée et il a été suggéré que l'insuline de vertébrés peut stimuler la croissance, la mobilisation des lipides, l'entrée et l'internalisation des sucres chez les insectes et chez d'autres invertébrés (Kramer, 1983). Des études récentes ont montré que le traitement à l'insuline améliore certains paramètres de pré-filage et de post-filage du ver à soie (Magadum et Hooli, 1989). Ces rapports suggèrent que les paramètres économiques du ver à soie s'améliorent après traitement à base d'analogues d'hormone juvénile ou d'insuline. Malheureusement, aucune étude n'a été faite sur l'effet d'analogues de JH en combinaison avec l'insuline ou d'autres hormones sur les paramètres économiques des vers à soie. Aussi, notre étude montre-t-elle les effets des applications répétées de Manta et d'insuline sur les paramètres économiques de la race polyvoltine de *B. mori*.

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

** Personne à contacter pour toute correspondance.

MATERIELS ET METHODES

Des vers à soie polyvoltins, élevés en laboratoire en suivant les méthodes améliorées (Krishnaswamy, 1978), ont été utilisés pour cette étude. Les larves du 3^{ème} (III) 4^{ème} (IV) et 5^{ème} (V) âge ont été placées dans trois groupes expérimentaux différents. Chaque groupe comprenait 5 réplicats de 20 vers (100). L'analogue Manta (M/s. Otsuka pharmaceuticals Ltd., Osaka, Japon, donné par le Dr. H. Nishimura, IA Coop. E. Association, Tokyo, Japon) et l'insuline synthétique IP40 (M/s Boots Company Pvt. Ltd., Bombay, India) ont été dilués dans de l'eau distillée afin d'obtenir des solutions à 4 µg/ml et 1 I.U./ml respectivement. Les larves du groupe 1 ont été traitées avec Manta aux 3^{ème} et 4^{ème} âges, 36 h après la 2^{ème} et la 3^{ème} mue respectivement, puis avec l'insuline au 5^{ème} âge, 72 h après la 4^{ème} mue. Les larves de ce groupe (100 vers) ont reçu au total 8 ml (32 µg) de Manta et 4 ml (4 I.U.) d'insuline. Les larves du groupe 2 ont été traitées seulement avec Manta, comme celles du groupe 1, et celles du groupe 3 n'ont été traitées qu'à l'insuline, comme celles du groupe 1 et sont utilisées comme témoins Manta et insuline. 8 ml (32 µg) de Manta au total ont été fournis au groupe 2 et 4 ml (4 I.U.) d'insuline au total, au groupe 3. Le groupe 4 témoin a été traité avec de l'eau distillée et le groupe 5 a servi de témoin sans traitement.

Après traitement, les paramètres de pré-filage, tels que la durée larvaire, le poids de la larve et le poids de la glande séricigène et les paramètres de post-filage, tels que les pourcentages de filage et d'émergence des papillons, le poids des cocons mâles et femelles, le poids des coques et la productivité en oeufs ont été calculés et les valeurs moyennes des résultats sont données dans le tableau I. Chaque valeur moyenne correspond à 10 vers, 2 de chaque réplicat. La durée larvaire et le poids larvaire ont été relevés à la fin du dernier âge. Le poids de la glande séricigène a été relevé juste avant le début de l'activité de filage à la fin du dernier âge larvaire. Les résultats recueillis ont été soumis à une analyse de variance afin d'établir un lien entre les paramètres correspondants des groupes traités et des groupes témoins non traités (Raghava Rao, 1983). Les valeurs de pourcentage de filage et d'émergence et la richesse soyeuse des cocons mâles et femelles sont transformées en valeurs angulaires pour l'analyse statistique. Les indices de valeur ont été calculés pour chaque paramètre par le rapport entre les groupes expérimentaux et les témoins non traités. Les données recueillies sur l'effet du traitement avec Manta et l'insuline sur les paramètres étudiés sont résumés dans le tableau I.

RESULTATS ET DISCUSSION

Durée de la période larvaire et poids larvaire

Les résultats montrent que la durée larvaire et le poids larvaire augmentent de façon significative après le traitement avec Manta ou Manta plus insuline. Le traitement avec Manta augmente la durée larvaire en prolongeant la période d'alimentation, ce qui provoque une augmentation du poids larvaire (Kobari et Akai, 1978 ; Washida, 1984). Le traitement à l'insuline, au contraire, a pour effet de réduire la période larvaire tout en augmentant le poids larvaire ; ceci a également été démontré dans les précédentes études (Magadum et Hooli, 1989). Il semble que cela provienne de l'effet stimulant de l'insuline sur la croissance des larves (Kramer, 1983). Les effets de Manta et de l'insuline sur la durée larvaire sont opposés lorsqu'ils sont utilisés individuellement. Les résultats de cette étude suggèrent que l'effet de réduction de l'insuline sur la durée larvaire est annulé lorsqu'elle est fournie aux larves du 5^{ème} âge traitées préalablement avec Manta au 3^{ème} et 4^{ème} âge.

Le poids de la glande séricigène

Le poids de la glande séricigène augmente de façon significative après traitement avec Manta puis insuline mais aussi avec Manta ou insuline. Des résultats semblables ont été relevés après des traitements avec JH ou des analogues de JH sur des races de vers à soie japonais (Akai et Kobayashi, 1971 ; Akai et coll., 1973 ; Shigematsu, 1978 ; Shimada et coll., 1979). L'augmentation du poids de la glande séricigène après traitement avec Manta ou Manta plus insuline s'explique par l'augmentation de l'activité synthétique de la glande séricigène, puisqu'il a été démontré que le traitement avec de la JH ou des analogues de JH augmente la synthèse des protéines de la soie, la réplication de l'ADN et l'accumulation des ARN dans la glande séricigène (Akai et coll., 1971 ;

Amori et coll., 1977 ; Chen et coll., 1982). L'augmentation du poids de la glande séricigène après traitement à l'insuline est sans doute due à l'effet stimulant de l'insuline sur l'activité de synthèse de la glande séricigène comme le suggère Kramer (1983).

Productivité en oeufs

Le nombre d'oeufs pondus augmente dans tous les groupes traités aux hormones. Néanmoins, une augmentation maximale (28 %) apparaît après le traitement avec Manta plus insuline. Mais, le pourcentage d'éclosion des oeufs n'a pas été étudié.

Pourcentages de filage et d'émergence des papillons

Les pourcentages de filage et d'émergence des papillons diminuent de manière significative dans tous les groupes traités aux hormones sauf dans le cas de l'émergence pour les groupes traités avec Manta pour lesquels le pourcentage est bien meilleur que celui des groupes témoins non traités. Ces résultats suggèrent en général que le taux de mortalité des larves et des chrysalides augmente après le traitement avec Manta plus insuline ou uniquement insuline.

Poids des cocons et des coques mâles et femelles

Les poids des cocons et des coques mâles et femelles augmentent de façon significative après avoir été traités avec l'analogue Manta puis l'insuline mais aussi après avoir été traités uniquement à l'insuline sauf pour le poids des cocons mâles traités à l'insuline. Le traitement avec l'analogue Manta n'a pas d'effet significatif sur ces paramètres. Les résultats de cette étude suggèrent que le traitement avec l'analogue Manta puis l'insuline donne des cocons plus lourds ainsi que des coques plus lourdes que ceux obtenus après traitement avec Manta ou l'insuline, tant chez les mâles que chez les femelles.

L'augmentation ou la diminution de la richesse soyeuse des cocons mâles et femelles est donnée dans le tableau I.

Il n'y a pas de différence significative entre les paramètres des témoins traités à l'eau distillée et les paramètres correspondants des témoins non traités.

Cette étude (Tableau I) montre qu'il y a une augmentation de 33,5 % du poids de la coque (moyenne des deux sexes) après traitement avec Manta plus insuline. Même en tenant compte de la diminution du pourcentage de filage, on note tout de même une augmentation de 22 % (moyenne des deux sexes) du poids de coque par rapport aux témoins non traités. Le traitement avec Manta plus insuline augmente la fécondité de 28 % par rapport aux témoins non traités. De ce fait, le traitement avec l'analogue Manta plus l'insuline peut être utilisé pour augmenter la production de soie ainsi que la production d'oeufs chez la race tropicale Pure Mysore de *B. mori*.

EPIDEMIOLOGY OF *CERCOSPORA* LEAF SPOT DISEASE OF MULBERRY. III. CONIDIAL DISPERSAL AND DISEASE INCIDENCE.

J. SUKUMAR* & A. RAMALINGAM

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

The seasonal incidence of leaf spot disease was studied during 1979-1981. Three broad seasons were recognized. The disease occurred during the rainy season causing a direct loss of up to 5 per cent due to defoliation and an additional loss of 20-25 per cent by destruction of leaf area. The disease intensity was heavier during 1979-1980 than during 1980-1981. Conidial dispersal of the pathogen was monitored using multidirectional and bidirectional splash traps. The pathogen was found to be splash-borne. The conidial counts in the rain samples were positively correlated with the increase in the amount of leaf area infected and frequency of showers. Rainfall was solely responsible for the initiation, spread and incidence of the disease. Cultural methods of controlling the disease have been discussed.

Keywords : Epidemiology, *Cercospora*, splash dispersal, mulberry.

INTRODUCTION

Cercospora moricola Cooke, the cause of leaf spot disease of mulberry (*Morus indica* L.) is one of the major constraints in leaf production. It causes severe spotting of young leaves leading to premature yellowing and defoliation (Sukumar & Ramalingam, 1981). Diseased leaves have been stated to be inferior in quality and unsuitable for feeding silkworms (Rangaswamy *et al.*, 1976). The disease occurs during the monsoon season which coincides with the peak silkworm rearing period of the year and thus reduces both yield and quality of the leaves, resulting in poor cocoon harvests. The objective of the present study was to gather comprehensive data on the seasonal incidence of the disease and its intensity in relation to conidial spread, conidial catch and meteorological factors.

MATERIALS AND METHODS

Mulberry plants of the variety M5 of *Morus indica* L. were grown in half an acre area spaced 60 cms apart, at Manasagangotri, the Post-Graduate campus of the University of Mysore. The conidia of the pathogen were sampled by using bidirectional (Fig. 1a) and multidirectional (Fig. 1b) splash traps (Waller, 1972 ; Sukumar & Ramalingam, 1981). The splash water collected after each rain was measured, centrifuged and the conidial concentration was estimated using a haemocytometer. Disease incidence was scored on 50 randomly chosen plants which were labelled for continuous critical observations. A six grade scale was formulated by following the method of Stover (1971) for scoring the proportions of infected leaf area in the field ; grade 0 = healthy, grade 1 = 1-5 per cent,

* Present address : Scientific Officer, Plant Protection Section, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, Karnataka State, India.

grade 2 = 6-15 per cent, grade 3 = 16-25 per cent, grade 4 = 26-50 per cent, grade 5 = 51-75 per cent, grade 6 = 76-100 per cent. Following each rain an aluminium foil label was tied on the stem just below the terminal bud to mark the leaves which were exposed to rain from the newly produced unexposed ones. The disease was scored on the first and tenth day after each rain during the rainy season and at fortnightly intervals during post-rainy seasons, counting the topmost unfurling leaf as 1 and the rest of the leaves below as 2, 3, 4, and so on. Data were gathered on the following parameters: 1) per cent plants infected 2) per cent leaf area infected, 3) number of leaves dropped off due to infection, and 4) days required for leaf fall in relation to per cent leaf area infected. Weather data were collected using standard meteorological instruments installed in the field.

RESULTS

Seasons and weather

Three broad seasons were recognized from the weather data of Mysore. The rainy season which commenced with the onset of South-West monsoon in the month of May lasted upto October giving the major share of rainfall received in this area. The temperatures were moderate (22-25°C) and relative humidity usually high (70-90 %). The season during the months of November-February recorded low temperature and dry weather. This season was named as cool season. This season also received a few showers from the North-East monsoon during November and December. The months of March and April recorded maximum temperature of the year for this place with dry weather and relative humidity sometimes reaching a low figure of 8 %. This season was recognized as summer.

Table I. Effect of different grades of leaf spot infection on defoliation of mulberry leaves.

Tableau I. Effet des différents degrés de la maladie des taches des feuilles sur la défoliation des feuilles de mûriers.

Grade scale <i>Echelle des degrés</i>	Per cent leaf area infected <i>Pourcentage de la surface foliaire infectée</i>	Number of days required for defoliation <i>Nombre de jours nécessaires à la défoliation</i>
0 (Healthy) <i>0 (saine)</i>	0	70-75
1 (1-5)	2	41-49
2 (6-15)	10	30-36
3 (16-25)	25	26-32
4 (26-50)	50	5-7
5 (51-75)	75	2-5
6 (76-100)	100	2-3

Conidial dispersal

The conidia of *C. moricola* were dispersed by rain splash. The first few rain samples did not reveal the presence of conidia. Conidia began to appear in the splash traps when about 5 per cent of the plants showed infection, and were caught on all the days when the rain fell. During 1979-80

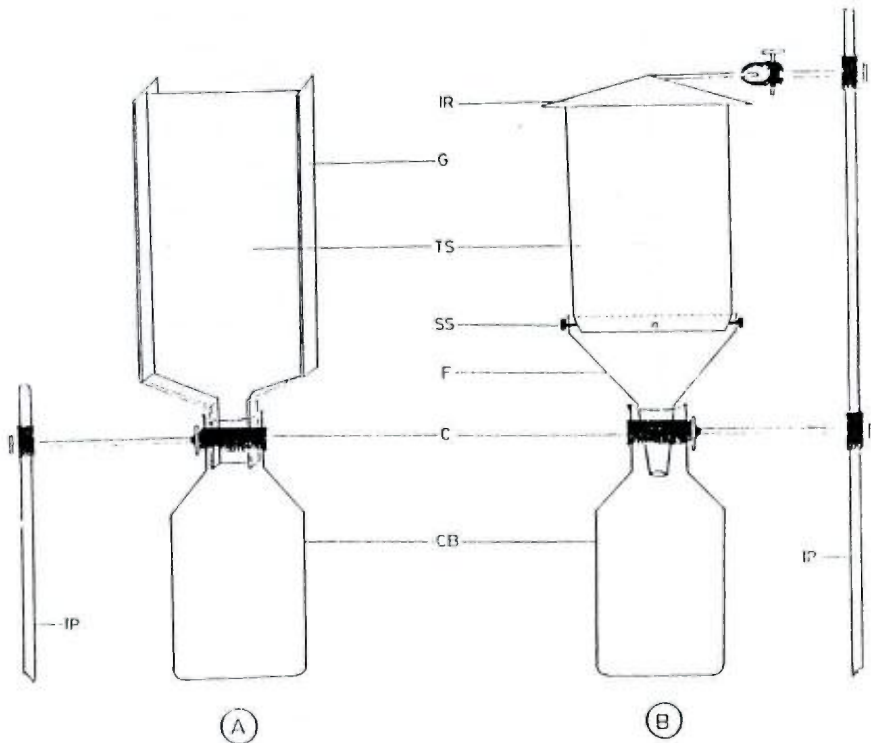


Fig. 1 : Traps used to sample splash-borne conidia.

A. Bidirectional splash rap, B. Multidirectional splash trap, C. Clamp, CB. collection bottle, F. Funnel, G. Gutter, IP. Iron pole, IR. Inclined roof, SS. screw support, TS. Trapping surface.

Fig.1 : Pièges utilisés pour recueillir les conidies projetées.

A. Piège de projection bidirectionnel, B. Piège de projection multidirectionnel, C. Collier de serrage, CB. Réceptacle, F. Entonnoir, G. Gouttière, IP. Tige en fer, IR. Toit incliné, SS. Support de vis, TS. Surface de réception.

(Fig. 2) out of 51 rain samples examined after the appearance of the disease, conidia were recorded in 47 samples, with peak catches on 19th September and 7th October. Of the 58 samples during 1980-81 (Fig. 3), conidia were caught in 44 samples, highest number being trapped on 7th September and 21st November. The increased conidial counts in the rain samples were positively correlated with the increase in the amount of leaf area infected and frequency of showers. When there were continuous showers with intermittent rainless days, the first rain sample had the highest catch of conidia which gradually decreased in subsequent rain samples.

Disease incidence

The data on the disease incidence during 1979-1981 in relation to rainfall, conidial concentration in the rain samples, temperatures and relative humidity are presented in figures 2 and 3. In general the intensity of the disease was more during 1979-1980 than during 1980-1981. The disease commenced with the onset of monsoon in the month of May/June and lasted upto December. Infection spots were first noticed on the young leaves which were very close to the soil surface. In the initial stages the number of spots developed were only a few. The topmost six leaves were highly susceptible while the terminal bud and the leaves older than 18 days were immune to infection. Thus healthy and diseased zones were observed on the stems. Under field conditions the disease expressed on the 8th or 9th day after the receipt of inoculum. Eighty per cent of the plants showed infection during 1980-81 while it was 75 per cent during 1979-80. The per cent leaf area infected showed fluctuations between scoring dates due to defoliation of infected leaves and production of new leaves which remained healthy until they were exposed to fresh splash-borne inoculum. The leaves which emerged after the receipt of last shower were totally free from infection.

Defoliation of the infected leaves was dependent on the extent of leaf area colonized by the pathogen (Table I). Healthy leaves remained on the stem approximately for a period of 70-75 days and those with 90-100 per cent colonization dropped off within 2-3 days after the expression of symptoms resulting in leafless zones on the stems.

The disease spread was noticed even after the receipt of a small trace of rain which was difficult to record with the rain gauge. Maximum number of infected plants were scored in the month on December after the receipt of the last shower.

DISCUSSION

Mulberry leaves form the chief source of food for silkworms and any loss in the production of good quality leaves, directly affects the economy of sericulture. The leaf spot disease causes a direct loss of upto 5 per cent by defoliation and an additional loss of 20-25 per cent due to destruction of leaf area. The disease occurs during rain season. The pathogen was reported to be air-borne (Rangaswamy *et al.*, 1976). However, with suitable spore sampling devices, Sukumar and Ramalingam (1981), clearly established the splash-borne nature of *C. moricola* conidia. The pathogen produces spores which are held together in clumps by a slimy matrix, thus making them unable to become air-borne. Healthy plants exposed around leaf spot infected plants during fine weather and incubated under high humidity did not develop disease while those exposed around infected plants during rainy period were infected (Sukumar & Ramalingam, 1981) indicating the sole dependence of the pathogen on rain splash. This is the reason for the occurrence of the disease only during monsoon season.

C. moricola overseasons in the plant residue in soil. With the receipt of a first few showers, the pathogen rejuvenates growth and produces conidia which are carried on to the under-surfaces of the leaves through ground splash by subsequent rains. In India mulberry is base pruned during the month of June with the onset of monsoon. The young leaves produced will be very close to the soil surface and become easily accessible to the inoculum-borne ground splash, resulting in the initiation of the disease. Subsequent showers spread the disease both vertically and horizontally on the plants.

Since *C. moricola* is solely dependent on rain for the dissemination of its conidia, the disease can be easily controlled through cultural methods. The conidial production on leaves commences on the third day after the appearance of the symptoms (Sukumar & Ramalingam, 1986) and reaches the

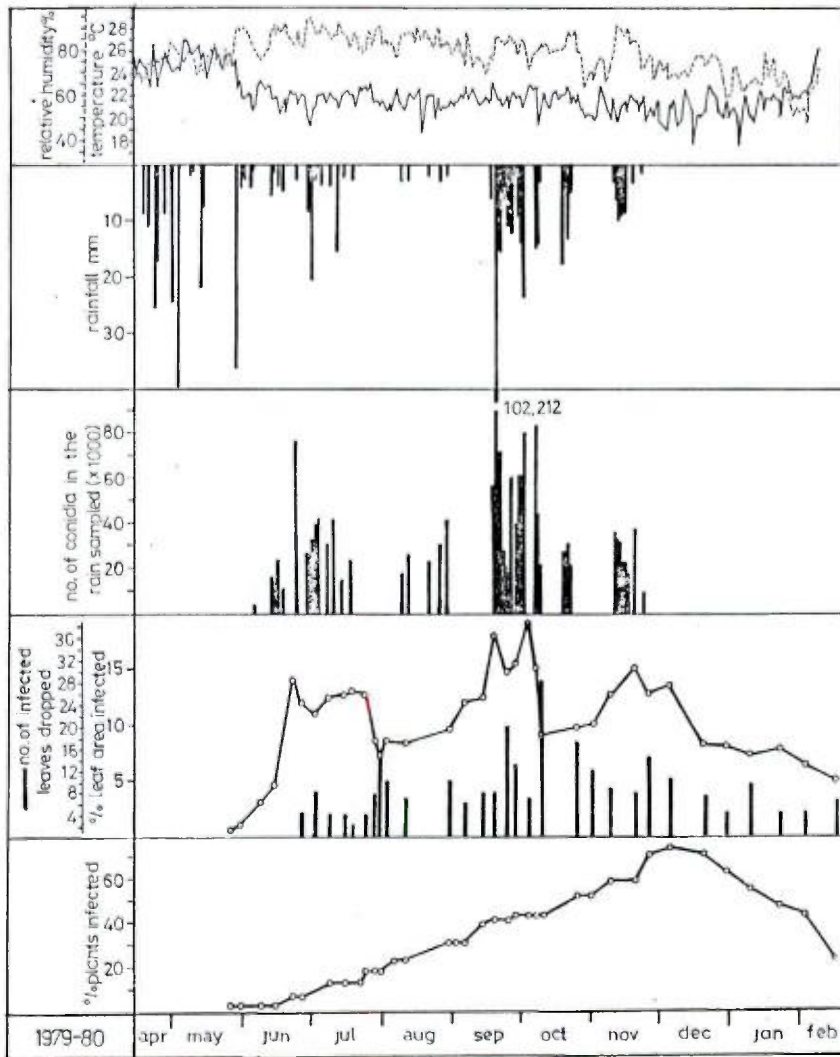


Fig. 2 : Incidence of leaf spot disease on mulberry plants during 1979-80 in relation to weather and conidial catch.

Fig. 2 : Incidence de la maladie des taches des feuilles sur les plants de mûriers en 1979-80 par rapport aux conditions météorologiques et à la capture de conidies.

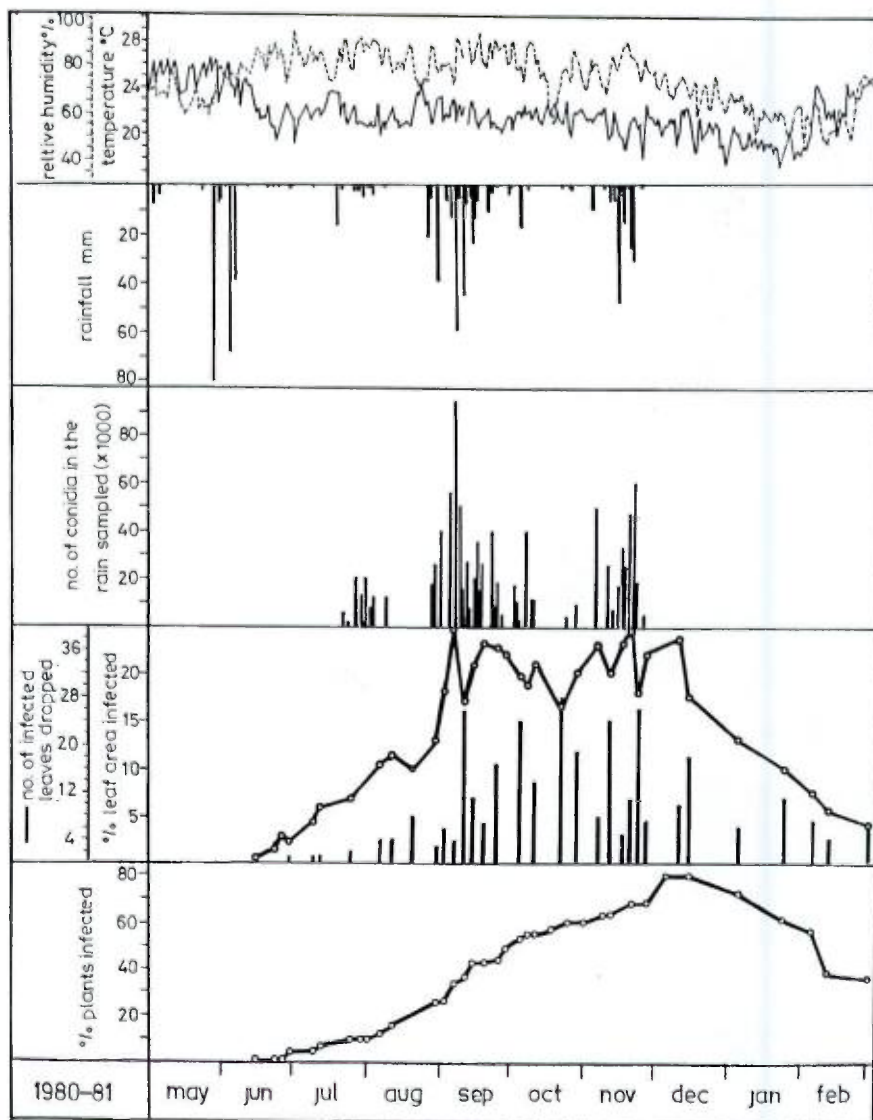


Fig. 3 : Incidence of leaf spot disease on mulberry plants during 1980-81 in relation to weather and conidial catch.

Fig. 3 : Incidence de la maladie des taches des feuilles sur les plants de mûriers en 1980-81 par rapport aux conditions météorologiques et à la capture de conidies.

peak on the 5th day. The disease intensity and its spread can be effectively controlled if the infected leaves are removed manually before the commencement of sporulation or the receipt of rain.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the CSIR, New Delhi for financial assistance and the University of Mysore for facilities.

REFERENCES

- RANGASWAMY G., NARASIMHANNA M.N., KASHIVISWANATHAN K., SASTRY C.R. (1976), Sericulture manual. I. Mulberry cultivation. FAO Agric. Ser. Bull., FAO Agric. Org. of U.N., Rome, 150 p.
- STOVER S.A. (1971), A proposed international scale for estimating intensity of banana leaf spot (*Mycosphaerella musicola* Leach.). Trop. Agric. Trin., 48, 185-196.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1981), Splash dispersal in *Cercospora moricola*. Sci. & Cult., 47, 173-175.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1986), Epidemiology of *Cercospora* leaf spot disease of mulberry. I. Stages of infection spots and conidial production. Sericologia, 26(4), 549-553.
- WALLER J.M. (1972), Water borne spore dispersal in coffee berry disease and its relation to control. Ann. Appl. Biol., 55, 139-148.

EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE DE LA TACHE DU MURIER *CERCOSPORA*. III. DISPERSION DES CONIDIES ET INCIDENCE DE LA MALADIE

J. SUKUMAR* & A. RAMALINGAM

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

On a étudié l'incidence saisonnière de la maladie de la tache du mûrier en 1979-81. Trois saisons principales ont été identifiées. La maladie s'est déclenchée au cours de la saison des pluies provoquant une perte directe allant jusqu'à 5 % par défoliation et une perte supplémentaire de 20-25 % par destruction de la surface de la feuille. L'intensité de la maladie a été plus forte au cours des années 1979-80 qu'au cours des années 1980-81. La dispersion des conidies de l'agent pathogène a été contrôlée au moyen de pièges de projection multidirectionnel et bidirectionnel. On a découvert que l'agent pathogène provenait des projections de pluie. Le nombre des conidies dans les échantillons de pluie sont corrélés de manière positive à l'augmentation de surface foliaire infectée et à la fréquence des averses. La pluviosité est uniquement responsable de l'amorce, la propagation et l'incidence de la maladie. Les méthodes de culture pour lutter contre la maladie sont discutées.

INTRODUCTION

Cercospora moricola Cooke, cause de la maladie de la tache du mûrier (*Morus indica* L.), est l'un des fléaux majeurs de la production de feuilles. Il tache gravement les jeunes feuilles, ce qui conduit au jaunissement précoce et à la défoliation (Sukumar et Ramalingam, 1981). On a établi que les feuilles malades étaient de qualité inférieure et impropres à la consommation par les vers à soie (Rangaswamy et coll., 1976). La maladie se déclenche au cours de la mousson d'été qui coïncide avec la période de pointe dans l'élevage des vers à soie de l'année, ce qui réduit donc à la fois le rendement et la qualité des feuilles, donnant de mauvaises récoltes de cocons. Le but de la présente étude est d'accumuler des données complètes sur l'incidence saisonnière de la maladie et son intensité en rapport avec la propagation, la capture de conidies et les facteurs météorologiques.

MATERIELS ET METHODES

On a planté des mûriers de la variété M5 de *Morus indica* L. sur une surface d'un demi-acre, à 60 cm d'intervalle entre les plants, à Manasagangotri, Post-Graduate Campus, Université de Mysore. Les conidies des agents pathogènes ont été échantillonnées au moyen de pièges de projection bidirectionnel (Fig. 1a) et multidirectionnel (Fig. 1b) (Waller, 1972 ; Sukumar et Ramalingam, 1981). L'eau projetée recueillie après chaque pluie a été mesurée, centrifugée puis on a évalué la concentration en conidies avec un hémocytomètre. L'incidence de la maladie a été enregistrée sur 50 plants sélectionnés au hasard et qui ont été choisis pour les observations continues. On a établi une

* Adresse actuelle : Scientific Officer, Plant Protection Section, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Karnataka State, Inde.

échelle de degrés suivant la méthode de Stover (1971) afin d'enregistrer la proportion de surface foliaire infectée dans le champ comme suit : degré 0 = sain, degré 1 = 1-5 %, degré 2 = 6-15 %, degré 3 = 16-25 %, degré 4 = 26-50 %, degré 5 = 51-75 %, degré 6 = 76-100 %. Après chaque pluie, on a noué une étiquette en aluminium autour de la tige juste au-dessous du bourgeon terminal pour différencier les feuilles qui ont été exposées à la pluie des feuilles nouvellement sorties et non-exposées. La maladie a été enregistrée au 1er et au 10ème jour de chaque pluie au cours de la saison des pluies et à quinze jours d'intervalle au cours des saisons suivantes. On a donné le numéro 1 à la feuille supérieure la plus jeune et les numéros 3, 4, 5, etc., aux feuilles inférieures. Les données ont été recueillies selon les paramètres suivants : 1) pourcentage des feuilles infectées, 2) pourcentage de la surface foliaire infectée, 3) nombre de feuilles tombées en raison de l'infection et 4) nombre de jours nécessaires à la chute des feuilles par rapport au pourcentage de surface foliaire infectée. Les données météorologiques ont été recueillies au moyen d'instruments météorologiques standards installés dans les champs.

RESULTATS

Saisons et météorologie

On a identifié trois saisons principales d'après les données météorologiques de Mysore. La saison des pluies qui commence en mai, en même temps que la mousson sud-ouest, dure jusqu'en octobre et donne le maximum des précipitations reçues dans cette région. Les températures sont modérées (22°-25°C) et l'humidité relative, normalement élevée (70-90 %). La saison de novembre à février est caractérisée par des températures basses et un temps sec, elle est appelée saison froide. Au cours de cette saison, on a également noté quelques averses dues à la mousson nord-est en novembre-décembre. En mars-avril, on enregistre les températures les plus élevées de l'année pour cette région, avec un temps sec et une humidité relative ne dépassant pas parfois 8 %. Cette saison a été identifiée comme étant l'été.

Dispersion des conidies

Les conidies de *C. moricola* ont été dispersées par les gouttes de pluies. Les premiers échantillons de pluie n'ont pas de trace de conidies. Celles-ci ont commencé à apparaître dans les pièges à projection quand environ 5 % des plants ont été infectés, on en a ensuite prélevées tous les jours où il a plu. Au cours des années 1979-80 (Fig. 2), sur 51 échantillons examinés d'après l'apparition de la maladie, des conidies ont été enregistrées dans 47 échantillons, avec des prélèvements maximums le 19 septembre et le 7 octobre. Des 58 échantillons récoltés en 1980-81 (Fig. 3), 44 contenaient des conidies, le nombre le plus élevé ayant été atteint le 7 septembre et le 21 novembre. L'augmentation du nombre de conidies dans les échantillons de pluie est en corrélation positive avec l'augmentation du total de la surface foliaire infectée et avec la fréquence des averses. Lorsque les précipitations sont continues, avec des journées intermittentes sans pluie, le premier échantillon de pluie contient le nombre le plus élevé de conidies, nombre qui diminue graduellement dans les échantillons suivants.

Incidence de la maladie

Les données concernant l'incidence de la maladie en 1979-81 par rapport à la pluviosité, la concentration en conidies dans les échantillons, la température et l'humidité relative sont présentées dans les figures 2 et 3. En général, l'intensité de la maladie a été plus élevée en 1980-81 qu'en 1979-80. La maladie s'est déclarée au début de la mousson de mai/juin et a duré jusqu'en décembre. On a tout d'abord remarqué les taches infectées sur les jeunes feuilles qui sont très proches de la surface du sol. Au cours des premiers stades, le nombre de taches est très faible. Les six feuilles supérieures sont très sensibles alors que le bourgeon terminal et les feuilles âgées de 18 jours ou plus sont insensibles à l'infection. On a donc étudié les zones saines et les zones malades sur la tige. Dans des conditions naturelles, la maladie est apparue au huitième ou au neuvième jour après réception de l'inoculum : 80 % des plants étaient porteurs de l'infection en 1980-81 contre 75 % en 1979-80. Le pourcentage de la surface foliaire infectée indique des fluctuations entre les données concernant la défoliation des feuilles infectées et la production des nouvelles feuilles qui sont restées saines jusqu'à exposition à

l'inoculum émanant des gouttes de pluie. Les feuilles qui ont émergé après la dernière averse sont totalement exemptes d'infection.

La défoliation des feuilles infectées dépend de l'étendue de la surface foliaire colonisée par l'agent pathogène (Tableau I). Les feuilles saines restent sur la tige pour une période d'environ 70-75 jours, celles qui sont colonisées à 90-100 % tombent dans les 2-3 jours après l'apparition des symptômes, donnant ainsi des zones dépourvues de feuilles sur les tiges.

On a remarqué que la maladie se propage même après quelques traces de pluie qu'il est difficile d'évaluer au pluviomètre. Le nombre maximum de plants infectés a été enregistré en décembre après la dernière pluie.

DISCUSSION

Les feuilles de mûrier constituent la source de nourriture principale des vers à soie et toute perte de feuilles de qualité dans la production affecte directement l'économie séricicole. La maladie de la tache du mûrier engendre une perte directe allant jusqu'à 5 % par défoliation et une perte supplémentaire de 20-25 % par destruction de la surface foliaire. La maladie apparaît au cours de la saison des pluies. On avait prétendu que l'agent pathogène était transporté par l'air (Rangaswamy et coll., 1976). Cependant, grâce à des dispositifs d'échantillonnage des spores adéquats, Sukumar et Ramalingam (1981) ont clairement démontré que les conidies de *C. moricola* étaient transportées par les gouttes de pluie. L'agent pathogène produit des spores regroupées en bouquets par une matrice qui peuvent, de fait, être transportées par l'air. Les plants sains exposés près des plants infectés par la maladie de la tache par temps clair et incubés dans un taux d'humidité élevé ne développent pas la maladie, tandis que ceux qui sont exposés près des plants malades par temps pluvieux sont infectés (Sukumar et Ramalingam, 1981), ce qui confirme le fait que l'agent pathogène provient uniquement des gouttes de pluie. Ceci explique pourquoi la maladie apparaît seulement durant la mousson.

C. moricola reste dans le résidu du plant dans la terre. Dès les premières précipitations, l'agent pathogène se régénère et produit des conidies qui sont portées jusqu'à la surface inférieure des feuilles par les gouttes des pluies suivantes. En Inde, le mûrier est taillé à la base au mois de juin au début de la mousson. Les jeunes feuilles seront très proches de la surface du sol et donc très vulnérables à l'inoculum provenant de la terre, ce qui déclenchera la maladie. Les averses suivantes répandront la maladie à la fois verticalement et horizontalement sur les plants.

Etant donné que *C. moricola* dépend uniquement de la pluie pour la dissémination de ses conidies, il est très facile d'enrayer la maladie par les méthodes de culture. La production de conidies sur les feuilles commence le troisième jour après l'apparition des symptômes (Sukumar et Ramalingam, 1986) et atteint son maximum au cinquième jour. L'intensité de la maladie et sa propagation peuvent être maîtrisées de manière efficace en enlevant les feuilles manuellement avant la sporulation ou la pluie.

STUDIES ON GENETIC DIVERGENCE IN MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

M. S. JOLLY, R. K. DATTA, M. K. R. NOAMANI, M. N. SITARAMA IYENGAR,
C.S. NAGARAJ, H.K. BASAVARAJ, G. KSHAMA & P. RAMA MOHANA RAO

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

A representative group of 49 bivoltine silkworm strains including indigenous exotic and evolved lines maintained at Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, were studied using Mahalanobis' D^2 (Rao, 1952) statistic and canonical analysis, to understand the nature and magnitude of divergence and to assess the importance of a set of quantitative characters in genetic differentiation. Canonical vector values were obtained. The results indicated that the yield by number per 10,000 larvae brushed, fecundity, total larval duration largely contributed to the divergence. There were no indications of a relationship between geographical diversity and genetic diversity in the present study, which confirms the earlier studies on rice (Julfiquar et al., 1985).

Keywords : Genetic divergence, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

Genetic divergence, as one of the criteria of selection of parents is, in general, considered in most of the breeding experiments as a means to generate crosses which segregate in later generations into genotypes transgressing the performance of the better parent (Murty *et al.*, 1962 ; Timothy, 1963). The F_1 hybrids and their parents developed in Japan or China are not adapted to the tropics on account of their susceptibility to major diseases. One of the challenges in silkworm breeding is the selection of suitable parent lines with which to develop heterotic combinations. This, however, may be facilitated by determining genetic divergence among the available lines. Inclusion of more diverse parents (within a limit) in hybridization is believed to increase the chances of obtaining stronger heterosis in hybrids (Joshi & Dhawan, 1966 ; Anand & Murty, 1968).

In plants like brassica, wheat sorghum and tobacco considerable genetic variability was observed for each of the characters in the crops examined (Murty and Arunachalam, 1955). The extent of heterosis has been found to be proportional to the genetic diversity between the parents (Jinfei and Luin, 1983). Genetic background for transgression or heterosis has been studied for characters governed by single gene with two or multiple alleles or two linked loci (Falconer, 1964 ; Cress, 1966; Arunachalam, 1977). It was shown earlier (Srivastava and Arunachalam, 1977) that very high or very low parental divergence failed to result in heterosis in triticale. Arunachalam *et al.* (1984) reported that there is an optimum level of genetic divergence between parents to obtain heterosis in the F_1 generation and they also reported that it may not be logical to advocate the use of extremely divergent parents to obtain heterotic combinations.

The present studies were undertaken,

1. to ascertain the magnitude of genetic diversity among the different bivoltine silkworm breeds of *Bombyx mori*, maintained in the gene pool collections of Central Sericultural Research and Training

Institute - Mysore, India - which could be used to develop F₁ silkworm hybrids for tropical countries such as India,

2. to classify the breeds into clusters, and

3. to assess the importance of a set of quantitative characters related to yield in genetic differentiation.

MATERIALS AND METHODS

A total of 49 bivoltine strains were selected for the present study. All the breeds were reared in three cellular replications each. The rearings were conducted in a randomised block design during October-November 1983, July-August 1984 and January-February 1985, with new technology of silkworm rearing (Krishnaswamy, 1971 & 1978). Observations were made on fecundity, hatching %, larval duration, weight of 10 mature larvae, yield per 10,000 larvae brushed by number and by weight, single cocoon weight, single shell weight, cocoon shell ratio, Vth instar larval duration, melting % and double cocoon %.

Analyses of variance were done based on plot means. Based on the procedure described by Rao (1952), Mahalanobis' distance (D^2) values were calculated using the transformed uncorrelated means of the twelve variables. Following Tocher's method as also given in Rao (1952), clusters were made and confirmed by canonical analysis described by Singh and Chaudhary (1977).

RESULTS

Analysis of variance based on individual plot means showed highly significant differences among the 49 breeds for all the characters studied indicating existence of considerable genetic variation among the breeds.

Nature and magnitude of diversity

Clustering done by Tocher's method (Rao, 1952) on the basis of D^2 values the 49 breeds are classified into three clusters (Tables I and II.) and the number of lines included varied from 10 to 26. Twenty-six genotypes were included in cluster I of which nineteen breeds are newly evolved lines of C.S.R.T.I. Mysore, four lines are from Mono series (old lines of Mysore), one from Kalimpong (belongs to West Bengal, a Western State of India) and two from Pampore (belongs to J. & K., a northern state of India).

Thirteen genotypes were grouped in cluster II, which included 10 lines from Mysore, two from South Korean origin and one from Pampore.

Ten genotypes were grouped in cluster III which includes four South Korean lines and six from lines evolved at Mysore.

The two lines NB₃D₁ and NB₄D₂ have fallen into cluster I as they are derived from the same cross (Kokko × Seihako). But NB₂C₁ and NB₂C₂ have gone to two separate clusters although they have been derived from the same source (Kinshu × Showa). Similarly NB₄D₁ and NB₄D₂ have fallen into cluster I and II though they derived from one source. These results confirms the earlier results of Julfiquar *et al.* (1985). The mano series have been grouped under cluster I and III. None of the Mano's lines have gone to cluster II.

Another interesting feature in the present study is, some groups of breeds have gone to a particular cluster only, viz. none of the new bivoltine lines are figuring under cluster III, and maximum lines of new bivoltines (NB) have come under cluster I. None of the Mono lines figure under cluster II. Out of the three lines of Pampore BLF and PLF fall into cluster I and PBL is included under cluster II. Out of the four south Korean lines two lines are grouped under cluster II and two lines are included under cluster III. Cluster I lacks these breeds. So the inclusion of two breeds of the same origin is a clear indication that there is no relationship between genetic diversity and geographical distribution of the breeds. The inclusion of some silkworm breeds of the same origin in different clusters clearly indicated the presence of a considerable diversity within the same group of breeds.

Table I. Clustering genetically divergent stocks of bivoltine breeds.

Tableau I. Groupement de races bivoltines génétiquement divergentes.

Cluster n° Groupe n°	Code n° N° code	Strain Souche	Source Provenance
Cluster I Groupe I	1	NB ₁ C	Evolved lines of C.S.R. & T.I., Mysore <i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I. Mysore</i>
	2	NB ₂ B	
	3	NB ₂ C ₂	
	4	NB ₂ D ₁	
	5	NB ₃ A	
	6	NB ₃ B	
	7	NB ₃ D ₂	
	8	NB ₃ D ₁	
	9	NB ₄ B	
	10	NB ₄ C	
	11	NB ₄ D ₂	
	12	KA	Kalimpong (West Bengal) Mano's series / <i>Série de Mano</i>
	13	M-8	
	14	M-56	
	15	M-78	Pampore (Kashmir) lines <i>Lignées de Pampore (Cachemire)</i> Evolved lines of C.S.R. & T.I. Mysore <i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I., Mysore</i>
	16	M-910	
	17	BL-1	
	18	PLF	
	19	SNS	
	20	NB ₂	
	21	SPC ₁	
	22	SPC ₂	
	23	NJ ₃	
	24	JC ₁	
	25	CD ₁	
	26	CC ₁	
Cluster II Groupe II	27	NB ₁ B	Evolved lines of C.S.R. & T.I. Mysore <i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I., Mysore</i>
	28	NB ₂ A	
	29	NB ₂ C ₁	(Pampore) Evolved lines from Brazilian and South Korean hybrids / <i>Lignées d'hybrides du Brésil et de la Corée du Sud</i>
	30	NB ₃ C ₁	
	31	NB ₄ D ₁	
	32	PBL ₁	
	33	NBJH(PC)	
	34	JZH(MC)	
	35	NB-1	Evolved lines of C.S.R. & T.I. Mysore <i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I., Mysore</i>
	36	NB ₃	
	37	JD-1	
	38	PCN	
	39	CA ₂	

Continued / Suite page suivante

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

Cluster n° Groupe n°	Code n° N° code	Strain Souche	Source Provenance
Cluster III Groupe III	40	SS(OP)	Evolved lines of C.S.R. & T.I. Mysore.
	41	2C1SS	<i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I., Mysore</i>
	42	M-5	Mano's series / <i>Série de Mano</i>
	43	M-61	
	44	Hansang 1 × 2 NBH(PO)	Derived from South Korean and Brazilian
	45	'Jam107 × Jam108 (PO)	hybrids
	46	JZH (MO)	<i>Lignées provenant d'hybrides de la Corée du</i>
	47	JZH (PO)	<i>Sud et du Brésil</i>
	48	SPJ2	Evolved lines of C.S.R. & T.I. Mysore.
	49	JA2	<i>Lignées provenant du C.S.R. & T.I., Mysore</i>

Heterotic effects within a cluster

The breeds KA and NB4D2 fall into one cluster (I) but the heterotic hybrid KA × NB4D2 is commercially very popular and successful with farmers in South India. Similarly PCN and NB4D2 have also fallen into a single cluster (II) though the hybrid PCN × NB4D2 is gaining popularity in some areas of Karnataka. This confirms the earlier studies of Arunachalam *et al.* (1984). They reported that there is an optimum level of genetic divergence between parents to obtain heterosis in the F₁ generation and also reported that it may not be logical to advocate the use of extremely divergent parents to obtain heterotic combinations. Thus when an initial choice of parents has to be made to obtain heterosis, it is important to ascertain the level of parental divergence (Arunachalam *et al.*, 1984).

Table II. Clusters leasing on the D² values.Tableau II. Groupes obtenus avec les valeurs de D².

Cluster Groupe	Population Population
I	1, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 19, 21, 23, 24, 25, 27, 28, 35, 37, 39, 40, 42, 44, 45, 47
II	2, 3, 5, 10, 15, 26, 31, 34, 36, 43, 48, 49, 38
III	17, 18, 20, 22, 29, 30, 32, 33, 41, 46

Canonical analysis

In the present study it would appear from the canonical analysis that the two canonical roots accounted for most of the variability (Table III). Therefore a two-dimensional representation of relative positions of the varieties in the Z₁ Z₂ graph was found adequate (Fig. 1). The clusters were distinctly delineated to their respective positions similar to their positions in D² analysis.

Table III. Canonical vectors.

Tableau III. Vecteurs canoniques.

Sl n° N° série	Characters Caractères	Canonical vector 1(A1) Vecteur canonique 1(A1)	Canonical vector 2(× 2) Vecteur canonique 2(× 2)
1	Eggs per layings <i>Oeufs par pontes</i>	+ 0.125	+ 0.151
2	Hatching percentage <i>Pourcentage d'éclosion</i>	+ 0.002	+ 0.002
3	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	+ 0.017	+ 0.017
4	Weight of ten mature larvae <i>Poids de 10 larves matures</i>	- 0.005	- 0.005
5	Pupation/10,000 larvae brushed <i>Nymphose/10 000 larves levées</i>	+ 1.212	+ 1.212
6	Yield/10,000 (by weight) <i>Rendement/10 000 larves levées (pds.)</i>	- 0.003	- 0.003
7	Single cocoon weight <i>Poids d'un cocon</i>	- 0.0003	- 0.0003
8	Single shell weight. <i>Poids d'une coque</i>	- 0.001	- 0.0001
9	Shell percentage <i>Pourcentage de la coque</i>	- 0.001	- 0.001
10	Vth instar duration <i>Durée du 5ème âge larvaire</i>	+ 0.001	+ 0.002
11	Melting percentage <i>Pourcentage de fusion</i>	- 0.007	- 0.007
12	Double cocoon percentage <i>Pourcentage de cocons doubles</i>	- 0.003	- 0.0005
	Canonical root value <i>Valeur canonique des racines</i>	65,736.3	62,533.1
	Contribution to the divergence (%) <i>Contribution à la divergence (%)</i>	87.5	12.5

Contribution of characters, pupation, eggs/layings, larval duration, is significantly high for the divergence.

La contribution à la divergence est significativement élevée pour les caractères suivants : nymphose, nombre d'oeufs par ponte et durée larvaire.

From the magnitude of two canonical vectors it would appear that pupation, egg number and larval duration were responsible for both primary and secondary differentiation. The remarkable closeness of both vector values also indicates that the characters were usually affected in the evolutionary process.

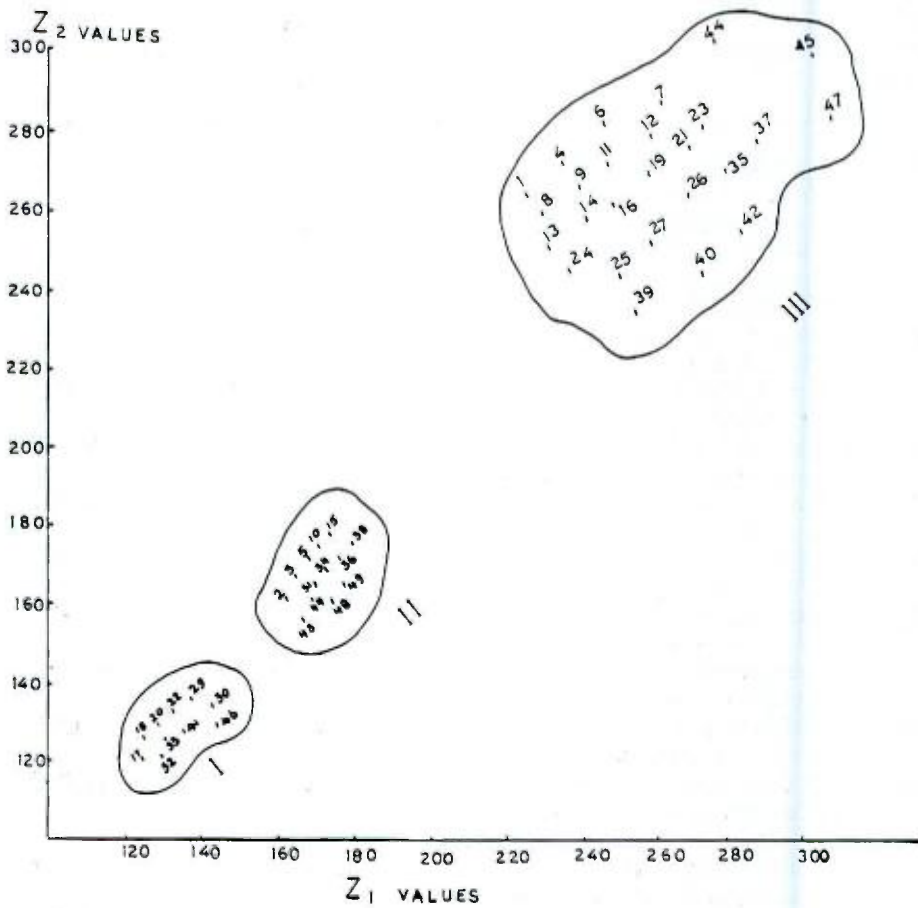


Fig. 1 : Disposition of 49 strains in Z_1 - Z_2 chart.
Fig. 1 : Disposition des 49 souches sur la carte Z_1 - Z_2 .

Intra and inter cluster values

Characterization of individual clusters was done by grouping the mean values of all characters for the three clusters. The intra and inter cluster average D^2 values are given in Table IV. It could be seen from the Table IV that cluster II and III are comparatively nearer and cluster I is totally different. It also indicates that inter cluster divergence was maximum for cluster II ($D = 26.76$) and minimum for cluster III ($D = 18.36$). The χ^2 test indicated that all the D^2 values calculated are greater than the table value and hence are significant. The most important traits contributing to the genetic divergence are pupation rate (52.63 %) followed by fecundity (26.95 %) and larval duration (10.2 %) (Table V).

Table IV. Intra and inter cluster average D^2 values.

Tableau IV. Valeurs moyennes de D^2 à l'intérieur d'un groupe et entre les groupes.

	I	II	III
I	10565.38 (24.50)	4956.25 (12.32)	8556.32 (16.53)
II		11525.32 (26.76)	10525.56 (22.32)
III			9565.32 (18.36)

DISCUSSION

In the present study the forty-nine bivoltine silkworm breeds were found to form three distinct clusters indicating the presence of distinct diversity among the breeds. These breeds can therefore be successfully used in the breeding programme to produce F_1 hybrids that will give higher magnitude heterosis.

Genetic divergence analysis is attempted in order to identify specific parents to achieve heterosis and recombination in the breeding programme. Mahalanobis' D^2 statistics has been followed by several workers on a wide range of crop species to measure the genetic distance among their breeding materials and to identify the characters responsible for such types of divergence. (Ram and Panwar, 1970 ; Vairavan *et al.*, 1973 ; Maurya and Singh, 1977 ; Rao *et al.*, 1981 ; Jinfei and Luin, 1983 ; Julfiquar *et al.*, 1985).

It was revealed from the above study that the breeds derived from the same parents were included in different clusters showing variation among the breeds derived from the same source. On the other hand the breeds derived from the same source were included in the same cluster showing a close affinity between advanced sisterliness.

Ram and Pawar (1970) reported that geographic diversity might be related to genetic diversity in rice. However Vairavan *et al.* (1973) and Julfiquar *et al.* (1985) did not find any relationship between geographical diversity and genetic diversity. The present study confirms the latter's findings. Strains of the same origin are placed in different clusters and the strains from different origins are placed in the same cluster. This implies that breeds from diverse eco-geographical origins do not give

Table V. I. Contribution of each character to divergence.

Tableau V. I. Contribution de chaque caractère à la divergence.

Characters Caractères	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
N ^o of lines appearing 1 st in ranking <i>Nb. de lignées apparaissant en 1^{er}</i>	317	35	120	26	619	7	-	-	2	31	15	4	1176
Contribution % <i>% contribution</i>	26.95	2.97	10.20	2.21	52.63	0.60	c	c	0.20	2.64	1.28	0.34	100

II. Testing of D^2 values for significance.

The table value of χ^2 with 12 is 21.026

The table value is lower than the calculated values of D^2 in all the cases. Hence all the D^2 values are significant.

II. Essai des valeurs de D^2 afin de déterminer la signification.

La valeur χ^2 du tableau est 21,026 avec 12.

La valeur sur le tableau est plus faible que les valeurs de D^2 calculées dans tous les cas. Toutes les valeurs de D^2 sont significatives.

always higher heterotic F_1 hybrids if they do not have enough genetic differences. The most important characters contributing to the genetic divergence are pupation followed by fecundity and larval duration and thus also influenced the clustering. The above results implied that in order to select genetically diverse parents of heterotic hybrids out of the breeds maintained in the germplasm, one should classify the materials based on the traits like pupation, fecundity larval duration. Materials chosen only on the basis of a single complex character like pupation, may not show transgressive segregates for yield potential. Therefore, if we are interested in heterosis over the best parent the materials should be discriminated for with respect to yield-contributing characters and not yield itself. In addition, discriminating on the basis of more characters along with yield components would also reflect the importance of other characters in genetic differentiation.

REFERENCES

- ANAND I.J., MURTY B.R. (1968), Genetic divergence and hybrid performance in linseed. Indian J. Genet. Plant Breed., 28, 178-185.
- ARUNACHALAM V. (1977), Heterosis for characters governed by two genes. J. Genet., 63, 15-24.
- ARUNACHALAM V., BANDYOPADHYAY S., NIGAM S.N., GIBBONS R.W. (1984), Heterosis in relation to genetic divergence and specific combining ability in ground nut (*Anachis hypogaeal.*). Euphytica, 33, 33-39.
- CRESS C.E. (1966), Heterosis of the hybrid related to gene frequency differences between two populations. Genetics, 53, 86-94.

- FALCONER D.S. (1981), Introduction to quantitative genetics. Longman Inc., New York, 340 pp.
- JINFEI X.V., WANGLUIN (1983), The utility of multivariate analysis on predicting heterosis in rice. In. Proc. Int. Genet. Cong., New Delhi, 551 pp.
- JOSHI A.B., DHAWAN N.L. (1966), Genetic improvement of yield with special reference to self fertilising crops. Indian J. Genet. Plant Breed., 26, 101-113.
- JULFIQUAR A.W., VIRMANI S.S., CARPENA A.I. (1985), Genetic divergence among some maintainer and restaurer lines in relation to hybrid breeding in rice. (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet., 70, 671-678.
- KRISHNASWAMI S. (1971), On some aspects of the improved technique of rearing mulberry silkworms. Indian Silk, 10(2), 7-9.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing. C.S.R. & T.I., Central Silk Board, Mysore, India, Bulletin n° 2.
- MAURYA D.M., SINGH D.P. (1977), Genetic divergence in rice. Indian J. Genet. Plant Breed., 37, 394-402.
- MURTY B.R., MURTY G.S., PAVATE M.Y. (1962), Studies on quantitative inheritance in *Nicotiana tobacum* L. Der Züchter, 32, 361-369.
- MURTY B.R., ARUNACHALAM V. (1967), Factor analysis of diversity in the genus sorghum. Indian J. Genet., 27, 123-135.
- RAM J., PANWARD V.S. (1970) Interspecific divergence in rice. Indian J. Genet. Plant. Breed., 30, 1-10.
- RAO C.R. (1952), Advanced statistical methods in biometric research. Wiley and Sons, New York.
- RAO A.V., PRASAD A.S.R., SAI KRISHNA T., SESHU D.V., SRINIVASAN T.E. (1981), Genetic divergence among some broods plant hopper resistant rice varieties. Indian J. Genet. Plant. Breed., 41, 179-185.
- SINGH R.K., CHAUDHARY B.D. (1977), Biometrical methods in quantitative genetic analysis. Kalyani publ. New Delhi, India.
- SRIVASTAV P.S.L., ARUNACHALAM V. (1977), Heterosis as a function of genetic divergence in tritcalo. Zeits. Pflanzenzuchtung, 78, 269-275.
- TIMOTHY D.H. (1963), Genetic diversity heterosis and the use of exotic stocks in maize in Columbia. In Statistical genetics and plant breeding symposium. Raleigh, 1961, NAS NRC Publ., 982, 581-593.
- VAIRAVAN S., SIDDIQUI E.A., ARUNACHALAM V., SWAMINATHAN M.S. (1973), A study on the nature of genetic divergence in rice from Assam and Northeast Himalayas. Theor. Appl. Genet., 43, 213-221.

ETUDE SUR LES DIVERGENCES GENETIQUES CHEZ LE VER A SOIE DU MURIER *BOMBYX MORI* L.

M. S. JOLLY, R. K. DATTA, M. K. R. NOAMANI, M. N. SITARAMA IYENGAR,
C.S. NAGARUJ, H.K. BASAVARAJ, G. KSHAMA & P. RAMA MOHANA RAO.

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore
570008, Inde.

Un groupe représentatif de 49 souches de vers à soie bivoltins comprenant des lignées locales et exotiques conservées au Central Sericultural Research & Training Institute de Mysore, Inde, a été étudié par l'analyse statistique D^2 de Mahalanobis (Rao, 1952) et canonique afin de connaître la nature et l'amplitude de la divergence et d'évaluer l'importance d'une série de caractères quantitatifs dans la différenciation génétique. Des valeurs de vecteurs ont été obtenues. Les résultats montrent que le rendement pour 10 000 larves levées, la fécondité et la durée larvaire totale contribuent largement à cette divergence. Aucun indice d'une relation entre la diversité géographique et la diversité génétique n'a été constaté dans cette étude, ce qui confirme les études antérieures portant sur le riz (Julfiquar et coll., 1985).

INTRODUCTION

La divergence génétique comme critère de sélection des parents est généralement considérée, dans la plupart des expériences d'élevage, comme une méthode permettant de produire des croisements qui se segmentent, au cours des générations suivantes, en génotypes transgressant la performance des meilleurs parents (Murty et coll., 1962 ; Timothy, 1963). Les hybrides F_1 et leurs parents, produits au Japon et en Chine, ne sont pas adaptés au climat tropical en raison de leur sensibilité aux maladies principales. L'un des défis de l'élevage des vers à soie tient à la sélection des lignées de parents adéquates qui permettent de développer les combinaisons hétérotiques. Ceci peut toutefois être facilité en déterminant les divergences génétiques entre les lignées disponibles. On pense que l'introduction de parents plus divers (dans une certaine limite) permet, pour l'hybridation, d'augmenter les chances d'obtenir une hétérosis plus forte chez les hybrides (Joshi et Dhawan, 1966; Anand et Murty, 1968).

Chez les plantes telles que brassica, sorgo du blé et tabac, on a observé une variabilité génétique importante pour chacun des caractères des récoltes examinées (Murthy et Arunachalam, 1955). Il a été découvert que l'étendue de l'hétérosis est proportionnelle à la diversité génétique entre les parents (Jinfei et Luin, 1983). On a étudié le "bruit de fond" génétique pour la transgression ou d'hétérosis pour les caractères gouvernés par un seul gène comprenant deux allèles et plus ou deux locus liés (Folconer, 1964 ; Cress, 1966 ; Arunachalam, 1977). Il a déjà été montré (Srivastava et Arunachalam, 1977) qu'une divergence parentale très élevée ou très faible donnait une hétérosis tritique. Arunachalam et coll. (1984) ont observé qu'il existe un niveau optimal de divergence génétique entre les parents permettant d'obtenir une hétérosis chez la génération F_1 et qu'il n'est peut-être pas logique de préconiser l'utilisation de parents extrêmement divergents pour obtenir des combinaisons hétérotiques.

Nous avons entrepris cette étude dans le but de :

- 1) déterminer l'amplitude des diversités génétiques entre différentes races de vers à soie *Bombyx mori* bivoltins - Banque des gènes du Central Sericultural Research & Training Institute de Mysore, Inde - qui pourraient être utilisés pour l'élevage d'hybrides F₁ dans les pays tropicaux tels que l'Inde.
- 2) classer les races par lot.
- 3) évaluer l'importance d'une série de caractères quantitatifs liés au rendement pour la différenciation génétique.

MATERIELS ET METHODES

On a sélectionné en tout 49 souches bivoltines. Toutes ces races ont été élevées dans trois réplicats cellulaires chacune. Les élevages ont été faits suivant la méthode de l'échantillonnage au hasard pendant les périodes octobre/novembre 1983, juillet/août 1984 et janvier/février 1985, selon la nouvelle technique d'élevage séricicole (Krishnaswamy, 1971 et 1978). Les observations ont porté sur la fécondité, le pourcentage d'éclosion, la durée larvaire, le poids de dix larves arrivées à maturité, le rendement pour 10 000 larves levées selon le nombre et le poids, le poids d'un cocon, le poids d'une coque, la richesse soyeuse, la durée du cinquième âge larvaire, le pourcentage de mélange et le pourcentage de cocons doubles.

Les analyses de variance ont été effectuées à partir des points moyens. Les valeurs de distance (D^2) de Mahalanobis ont été calculées, selon le procédé décrit par Rao (1952), par les moyennes non corrélées et transformées des douze variables. Les groupes ont été organisés d'après la méthode de Tocher, également préconisée par Rao (1952), puis confirmés par analyse canonique (Singh et Chaudhary, 1977).

RESULTATS

L'analyse de variance basée sur les moyennes permet de mettre en évidence des différences significatives entre les quarante-neuf races pour tous les caractères étudiés, ce qui semble indiquer l'existence d'une importante variation génétique entre ces races.

Nature et amplitude de la diversité

Une fois le groupage réalisé selon la méthode de Tocher (Rao, 1952) à partir des valeurs de D^2 , les quarante-neuf races sont réparties en trois groupes (tableau I et II), le nombre de lignées comprises variant de 10 à 26.

Vingt-six générations ont été incorporées au groupe I, dont dix-neuf races sont des lignées récentes du Central Research & Training Institute de Mysore, quatre lignées proviennent d'une série monovoltine (anciennes lignées de Mysore), une de Kalimpong (dans le West Bengal, état oriental de l'Inde) et deux de Pampore (J&K, Etat du nord de l'Inde).

Treize génotypes ont été réunis dans le groupe II qui comprend dix lignées de Mysore, deux lignées d'origine sud-coréenne et une de Pampore.

Dix génotypes ont été inclus dans le groupe III qui comprend quatre lignées sud-coréennes et six lignées élevées à Mysore.

On a mis les deux lignées NB3D1et NB4D2 dans le groupe I, car elles proviennent du même croisement (Kokko $\times$ Showa). Cependant NB2C1 et NB2C2 ont été réparties sur deux groupes différents, bien qu'elles dérivent de la même origine (Kinshu $\times$ Showa). De même, NB4D1et NB4D2 ont été réparties sur le groupe I et le groupe II, bien qu'elles proviennent d'une même source. Ces résultats confirment les constatations antérieures de Julfikar et coll. (1985). Les séries de Mano ont été classées dans les groupes I et III. Aucune des lignées de Mano n'a été placée dans le groupe II.

Un des autres points intéressants de cette étude provient du fait que seulement certaines races ont été mises dans un groupe particulier, c'est-à-dire qu'aucune des nouvelles lignées bivoltines ne figurent dans le groupe III et qu'un maximum de lignées de bivoltins récents (NB) font partie du groupe I. Aucune des lignées monovoltines ne figurent dans le groupe II. Sur les trois lignées de Pampore, BLF et PLF entrent dans le groupe I et PLB est inscrit sous le groupe II. Sur quatre lignées sud-coréennes, deux lignées ont été incorporées au groupe II, les deux autres, au groupe III. Ainsi la

répartition de deux races d'une même origine montre clairement qu'il n'existe aucune relation entre la diversité génétique et la répartition géographique des races.

L'inclusion de certaines races de vers à soie d'origine identique dans différents groupes met en évidence l'existence d'importantes diversités à l'intérieur d'un même groupe de races.

Effet hétérotique à l'intérieur d'un groupe

Les races KA et NB₄D₂ ont été classées dans le groupe I, mais l'hybride hétérotique KA × NB₄D₂ est d'un usage très courant et fort apprécié sur le plan commercial chez les agriculteurs du sud de l'Inde. De même, PCN et NB₄D₂ ont également été classés dans un même groupe (groupe II), bien que l'hybride PCN × NB₄D₂ soit de plus en plus utilisé dans certaines régions du Karnataka. Ceci confirme les études antérieures d'Arunachalam et coll. (1984) qui ont démontré l'existence d'un niveau optimal de divergence génétique entre les parents pour obtenir l'hétérosis chez la génération F₁. Ils ont également démontré qu'il n'était peut-être pas logique de prôner l'utilisation de parents extrêmement divergents si l'on souhaite obtenir des combinaisons hétérotiques. Aussi il est important, lorsque se pose le problème du choix initial des parents en vue d'obtenir l'hétérosis, de vérifier le niveau de divergence parentale (Arunachalam et coll. 1984).

Analyse canonique

Dans la présente étude, il semblerait, d'après l'analyse canonique, que les deux racines canoniques pourraient expliquer en grande partie la variabilité (tableau III). Il a donc été jugé utile de faire une représentation graphique en deux dimensions des positions relatives des variétés (graphique Z₁-Z₂, fig. 1). Les groupes sont clairement délimités d'après leurs positions respectives, similaires à leurs positions dans l'analyse de D².

L'amplitude des deux vecteurs canoniques semble indiquer que la nymphose, le nombre d'oeufs et la durée larvaire étaient responsables de la différenciation tant primaire que secondaire. La proximité remarquable des valeurs des deux vecteurs suggère également que le procédé d'évaluation influe habituellement sur les caractères.

Valeurs à l'intérieur d'un groupe et entre les groupes

La caractérisation des groupes individuels a été réalisée en répartissant les valeurs moyennes de tous les caractères pour les trois groupes. Les valeurs de D² moyennes à l'intérieur d'un groupe et entre les groupes sont données au tableau IV. Ce tableau met en évidence la proximité des groupes II et III par rapport au groupe IV, totalement différent. Il indique également que la divergence à l'intérieur d'un même groupe est plus élevée pour le groupe II (D = 26,76) et plus faible pour le groupe III (D = 18,36). Le test χ^2 montre que toutes les valeurs de D² calculées sont plus élevées que celle du tableau et sont donc significatives. Les traits les plus importants qui contribuent à la divergence génétique sont le taux de chrysalidation (52,63 %) suivi de la fécondité (26,95 %) et la durée larvaire (10,2 %) (Tableau V).

DISCUSSION

Dans la présente étude, on a découvert que les 49 races de vers à soie bivoltins se répartissent en trois groupes distincts, ce qui suggère la présence d'une diversité distincte entre les races. On peut donc utiliser celles-ci avec succès dans le programme d'élevage afin de produire des hybrides F₁ qui donneront une hétérosis d'amplitude plus large.

L'analyse de la divergence génétique a été mise en oeuvre en vue d'identifier les parents spécifiques pour la réalisation de l'hétérosis et de la recombinaison dans le programme d'élevage. La méthode statistique D² de Mahalanobis a été appliquée par plusieurs chercheurs sur une gamme très étendue d'espèces pour mesurer la distance génétique dans leur matériel d'élevage et pour déterminer les caractères responsables de ces types de divergence (Ram et Panwar, 1970 ; Vairavan et coll., 1973 ; Maurya et Singh, 1977 ; Rao et coll., 1981 ; Jinfei et Luin, 1983 ; Julfikar et coll., 1985).

La présente étude montre que les races dérivées de mêmes parents ont été rangées dans différents groupes, ce qui met en évidence la variation entre les races dérivant d'une même source. En outre,

des races dérivant d'une même source ont été incorporées au même groupe, ce qui montre l'affinité étroite entre des lignées soeurs d'un degré éloigné.

Selon Ram et Pawar (1970), la diversité géographique pourrait être liée à la diversité génétique dans le cas du riz. Cependant, Vairavan et coll. (1973) et Julfiquar et coll. (1985) n'ont découvert aucune relation entre la diversité géographique et la diversité génétique. Notre étude confirme les résultats de ces derniers. Les souches d'une même origine sont placées dans différents groupes alors que les souches d'origines différentes sont placées dans le même groupe. Ceci implique que les races d'origines géographiques diverses ne produisent pas toujours d'hybrides F_1 à hétérosis élevée si elles ne sont pas suffisamment différentes sur le plan génétique. Les caractères les plus importants en ce qui concerne la divergence génétique sont la nymphose suivie de la fécondité et de la durée larvaire; ils influencent donc la manière de former les groupes.

Les résultats donnés ci-dessus impliquent qu'il faut, pour sélectionner les parents génétiquement divergents d'hybrides hétérotiques à partir des races conservées dans la banque génétique, classer le matériel à partir de caractères tels que la nymphose, la fécondité, la durée larvaire. Le matériel choisi uniquement sur la base d'un seul caractère complexe tel que la nymphose risque de masquer les espèces séparées pour le potentiel du rendement. Il est donc nécessaire, si l'on veut obtenir une hétérosis sur le meilleur parent, sélectionner le matériel en fonction des caractères contribuant au rendement et non pas en fonction du rendement lui-même. De plus, la sélection sur la base de plusieurs caractères et des composants du rendement permet de rendre compte de l'importance d'autres caractères dans la différenciation génétique.

Brief note

NODAL AND PETIOLAR ORGANIZATION IN THE FOOD PLANTS OF MUGA SILKWORMS. A COMPARATIVE ANALYSIS.

D.P. PALIWAL & P.K. DAS

Central Silk Board, Muga (Seed) Development Project Tura, Meghalaya, India.

The present communication reports findings on the nodal and petiolar organization in primary/secondary food plants of muga silkworms belonging to families Lauraceae, Celastraceae, Melastomaceae, Rhamnaceae, Rutaceae, Verbenaceae, etc. The various investigated representatives possess a unilacunar one stranded node which ultimately forms uni-, tri-, and multi-stranded conditions of the vascular supply to the leaf. On the other hand, in the petiolar region vascular bundles are arranged in semi-circular manner. The number of leaf traces entering the foliar base varies within the same plant. This variation is important from a phylogenetic and systematic point of view.

Keywords : *Cinnamomum*, laminar apex, *Litsaea*, *Machilus*, phylogenetic, phyllotaxy.

INTRODUCTION

The muga worm (*Antheraea assama* Westwood) exclusively cultivated in Assam, foot hills of Meghalaya and Nagaland, spins golden silk, is polyphagous and thrives on various endemic plants, mainly on representatives of family Lauraceae and secondarily on few representatives of families Celastraceae, Melastomaceae, Rhamnaceae, Rutaceae, Verbenaceae, etc. The primary as well as secondary food plants of muga worms are distributed throughout the North-Eastern region of India ascending to an elevation from 1500 - 6000 ft. Bailey (1956) described the trace relationship at the node which is considered to be of phylogenetic importance and, therefore, nodal anatomy has received considerable attention with the systematists in unravelling the phylogeny of angiosperms. Carlquist (1959) identified the leaves are opposite or whorled, the node is classified on the basis of the number of the gaps to each leaf. In the recent years, Scrophulariaceae has been subjected to a detailed nodal anatomical study by Verghese (1969) and Kumar *et al.* (1980) but no parallel attempt has been made in other families including the families considered in the present study.

The present communication is restricted to a consideration of the node and petiole anatomy alone of the primary and secondary food plants of the muga silkworms.

MATERIAL AND METHODS

Fresh samples of vegetative shoot portion with petiole of the following species were collected from lower and upper Assam.

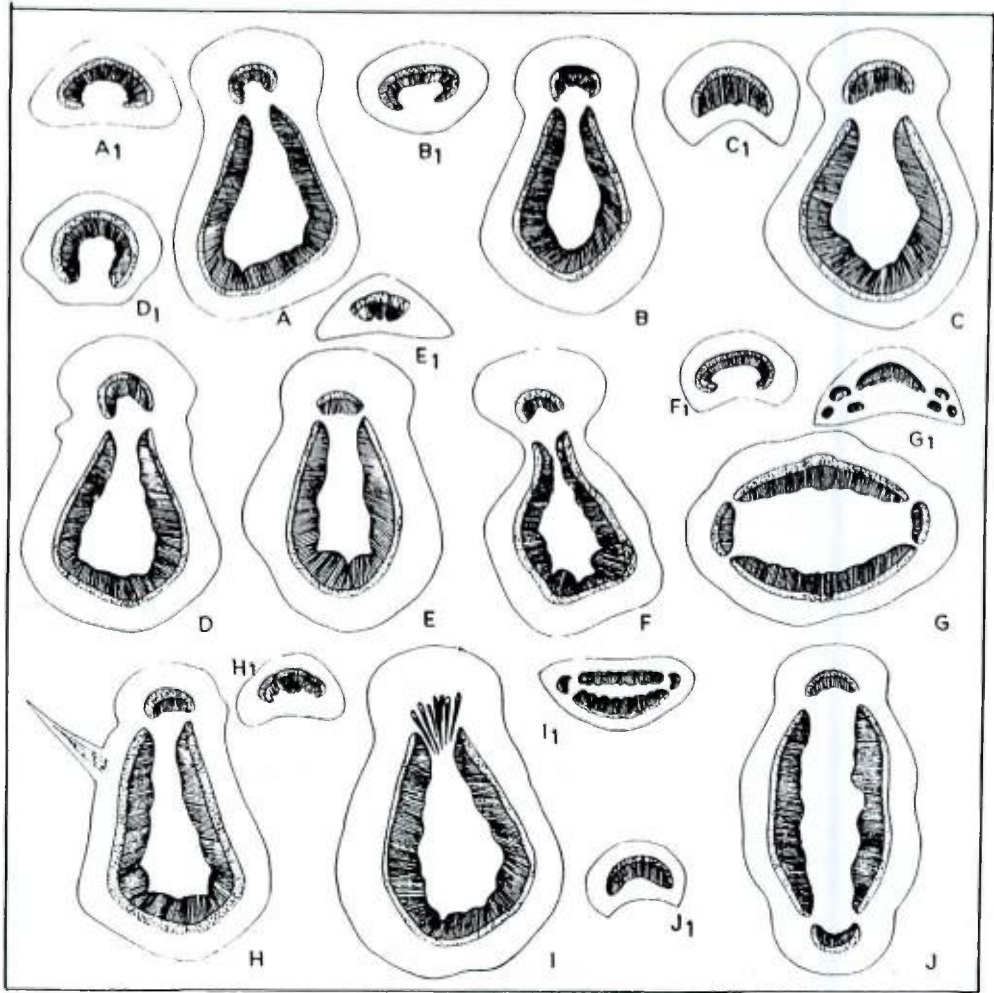


Fig. A-J1 : Nodal and petiolar organization in representatives of fam. Lauraceae, Celastraceae, Melastomaceae, Rhamnaceae, Rutaceae, Verbenaceae, etc.

Fig. A-J1 : Organisation nodale et pétiole chez les représentants des familles des lauracées, des célastracées, des mélastomacées, des rhamnacées, des rutacées, des verbénacées, etc.

Fig. A, B, C, D, E, F : T.S. of node showing uni-lacunar one-stranded situation in *Machilus Bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia*, *Cinnamomum obustifolium*, *Celastrous monosperma*.

Figs. A, B, C, D, E, F : Coupe transversale nodale montrant la caractéristique du toron unique, unilacunaire chez *Machilus Bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia*, *Cinnamomum obustifolium*, *Celastrous monosperma*.

Figs G, J : T.S. of node showing unilacunar one-stranded opposite situation in *Melastoma melabathrium* and *Gmelina arborea*.

Figs. G, J : Coupe transversale nodale montrant la caractéristique opposée du toron unique unilatéral chez *Melastoma melabathrium* et *Gmelina arborea*.

Fig. H : T.S. of node showing unilacunar one-stranded situation with one small side vascular trace in *Ziziphus jujuba*.

Fig. H : Coupe transversale nodale montrant la caractéristique du toron unique comportant une empreinte latérale vasculaire de petite taille chez *Ziziphus jujuba*.

Fig. I : T.S. of node showing unilacunar multi-stranded condition in *Xanthoxylem rhesta*.

Fig. I : Coupe transversale nodale montrant la caractéristique du toron multiple unilacunaire chez *Xanthoxylem rhesta*.

Fig. A1, B1, C1, D1, F1, J1 : T.S. of petiole showing a single vascular trace in *Machilus Bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia*, *Celastrous monosperma*, *Gmelina arborea*.

Fig. A1, B1, C1, D1, F1, J1 : Coupe transversale du pétiole montrant une seule empreinte vasculaire chez *Machilus Bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia*, *Celastrous monosperma*, *Gmelina arborea*.

Figs E, H : T.S. of petiole showing a trilobate vascular trace in *Cinnamomum obustifolium*, *Ziziphus jujuba*.

Figs. E, H : Coupe transversale du pétiole montrant une empreinte vasculaire trilobée chez *Cinnamomum obustifolium*, *Ziziphus jujuba*.

Fig G1 : T.S. of petiole showing a single vascular trace with six (3+3) small side traces in *Melastoma malabathrium*.

Fig. G1 : Coupe transversale du pétiole montrant une empreinte vasculaire unique comportant six (3+3) empreintes latérales de petite taille chez *Melastoma malabathrium*.

Fig. I1 : T.S. of petiole showing vascular ring with single trace opposite to leaflets in *Xanthoxylem rhesta*.

Fig. I1 : Coupe transversale du pétiole montrant un cercle vasculaire comportant une empreinte unique à l'opposé des folioles chez *Xanthoxylem rhesta*.

Family	Name of the taxa	Local/common name	Importance
Lauraceae	<i>Machilus bombycina</i> King	Som	Primary
	<i>Litsaea polyantha</i> Juss.	Soalu	--d°--
	<i>Litsaea citrata</i> BL.	Mejankary	Secondary
	<i>Litsaea salicifolia</i> Roxb.	Digloti	--d°--
	<i>Cinnamomum obustifolium</i> Blume	Patihonda	--d°--
Celastraceae	<i>Celastrous monosperma</i> Roxb.	Bhomoloti	--d°--
Melastomaceae	<i>Melastoma malabathrium</i> Linn.	Phutuka	--d°--
Rhamnaceae	<i>Ziziphus jujuba</i> Lamk.	Bogori/Ber	--d°--
Rutaceae	<i>Xanthoxylum rhesta</i> DC.	Bayrami	--d°--
Verbenaceae	<i>Gmelina arborea</i> Linn.	Gemari	--d°--

To obtain complete perspective of the nodal and petiolar organization, information has been obtained by the cross sections through the nodal and petiolar region.

RESULTS

In *Machilus bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia* and *Celastrous monosperma* (Fig. A, A1, B, B1, C, C1, D, D1, F, F1), the unilacunar node is accompanied by a single vascular stranded condition of the petiole of the lamina. In *Cinnamomum obustifolium* (Fig. E, E1), however, it is unilacunar with a single strand but later by repeated splitting of the single strand, three vascular traces appear in the petiole. In *Melastoma malabathrium* (Fig. G, G1), a single vascular strand arises from the stele of the stem and later splits into six (3+3) side traces with one central trace, in the petiole the central trace passes up to the laminar apex. *Ziziphus jujuba* (Fig. H, H1), also seems to pass up to the spinous stipule. In the later, the single strand ultimately divides into three traces in the petiole. In *Xanthoxylum rhesta* (Fig. I, I1), shows a unilacunar opposite node with multi-stranded condition, but later these strands form a unilacunar opposite ring of vascular bundles in the petiole, which is accompanied by a single-stranded condition of the leaflets. In *Gmelina arborea* (Fig. J, J1), a single vascular strand arises from the unilacunar opposite node and later passes up to the laminar apex.

DISCUSSION

Carlquist (1959) classified the phyllotaxy on the basis of the number of gaps. Our study on nodal and petiolar organization of the various primary/secondary food plants of muga worms belonging to families Lauraceae, Celastraceae, Melastomaceae, Rhamnaceae, Rutaceae, Verbenaceae, etc. The nodal organization in family Lauraceae exhibits uniformly, unilacunar node with one-stranded condition. This feature is useful from a phylogenetic - particularly for phyllotaxy identification - and systematic point of view. In *Cinnamomum obustifolium* and *Ziziphus jujuba* single vascular strand of node splits into three traces in the petiole which pass up to the laminar apex. In *Melastoma malabathrium* a single strand is given out from the stele which later divides into six (3+3) side vascular traces in the petiole. This indicates that the uni- to multi-stranded condition has originated in the petiole of the lamina from the unilacunar one stranded node.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express sincere thanks to Shri Jayant Jayswal, Deputy Chief Project Officer, Central Silk Board, Guwahati, Assam, for critically reading through the manuscript and helpful suggestions.

REFERENCES

- BAILEY I.W. (1956), *J. Arnold. Arb.*, 37, 269-287.
CARLQUIST S. (1959), *Pacif. Sci.*, 13, 195-210.
KUMAR, SASHI, BISHT P.S., PALIWAL G.S. (1980), *Curr. Sci.*, 49, 231-233.
VERGHESE T.M. (1967), *J. Res. Sci.*, 16(1), 153-157.

ORGANISATION NODALE ET PETIOLAIRE CHEZ LES PLANTES NOURRICIERES DU VER A SOIE MUGA. ANALYSE COMPARATIVE

D.P. PALIWAL & P.K. DAS

Central Silk Board, Muga (Seed) Development Project, Tura, Meghalaya, Inde.

Le présent article expose les conclusions d'une étude sur l'organisation nodale et pétiole chez les plantes nourricières primaires et secondaires du ver à soie Muga appartenant aux familles suivantes : lauracées, célastracées, mélastomacées, rhamnacées, rutacées et verbénacées. Les divers spécimens étudiés possèdent un noeud à toron unique qui se divise à son extrémité pour former des torons simples, doubles ou multiples nécessaires à l'alimentation vasculaire de la feuille. En outre, les groupes vasculaires de la région pétiole sont disposés en demi-cercle. Le nombre d'empreintes de feuilles entrant dans la base foliaire varie à l'intérieur d'une même plante. Cette variation est importante d'un point de vue phylogénétique et systématique.

INTRODUCTION

Le ver à soie Muga (*Antheraea assama* Westwood) est élevé exclusivement dans la région de l'Assam, sur les contreforts du Meghalaya et du Nagaland. Il file une soie dorée, est polyphage et se développe sur divers plantes endémiques, principalement sur les plantes appartenant à la famille des lauracées, et, au niveau secondaire, sur quelques plantes des familles des célastracées, mélastomacées, rhamnacées, rutacées et verbénacées. Les plantes nourricières tant primaires que secondaires du ver à soie Muga se trouvent dans l'ensemble de la région nord-est de l'Inde qui s'élève de 500 m jusqu'à une altitude de 2 000 m. Bailey (1956) décrit la relation à l'état de trace au niveau du noeud qui a une grande importance phylogénétique. Les systématiciens ont donc principalement porté leur attention sur la phylogénie des angiospermes. Carlquist (1959) a identifié les feuilles opposées ou en spirale, le noeud étant classé suivant l'écartement entre chaque feuille. Il y a quelques années, les scrophulariacées ont été soumises à une étude anatomique nodale détaillée (Verghese, 1969 ; Kumar et coll., 1980) mais aucune tentative parallèle n'a été faite chez les autres familles ou dans les familles considérées dans cette étude.

MATERIELS ET METHODES

Des échantillons frais de la portion de la pousse végétale comprenant le pétiole des espèces suivantes ont été prélevés dans le haut et le bas Assam :

Famille	Nom des taxons	Nom vulgaire/local	Importance
Lauracées	<i>Machilus bombycina</i> King	Som	Primaire
	<i>Litsaea polyantha</i> Juss.	Soalu	--d°--
	<i>Litsaea citrata</i> BL.	Mejankary	Secondaire
	<i>Litsaea salicifolia</i> Roxb.	Digloti	--d°--
	<i>Cinnamomum obustifolium</i> Blume	Patihonda	--d°--
Celastracées	<i>Celastrous monosperma</i> Roxb.	Bhomoloti	--d°--
Melastomacées	<i>Melastoma malabathrium</i> Linn.	Phutuka	--d°--
Rhamnacées	<i>Ziziphus jujuba</i> Lamk.	Bogori/Ber	--d°--
Rutacées	<i>Xanthoxylum rhesta</i> DC.	Bayrami	--d°--
Verbenacées	<i>Gmelina arborea</i> Linn.	Gemari	--d°--

Afin d'avoir une vue d'ensemble de l'organisation nodale et pétioilaire, les données ont été recueillies à partir des coupes transversales des régions nodales et pétioilaires.

RESULTATS

Chez *Machilus bombycina*, *Litsaea polyantha*, *L. citrata*, *L. salicifolia* et *Celastrous monosperma* (Fig. A, A1, B, B1, C, C1, D, D1, F, F1), le noeud unilacunaire possède également un toron vasculaire unique dans le pétiole du limbe. Chez *Cinnamomum obustifolium* (Fig. E, E1), le noeud est unilacunaire et n'a qu'un seul toron, mais par la suite, après des coupes répétées du toron unique, trois traces vasculaires apparaissent dans le pétiole. Chez *Melastoma malabathrium* (Fig. G, G1), un toron vasculaire unique part de la stèle de la tige, puis se divise en six (3 + 3) traces transversales comprenant une trace centrale. Dans le pétiole, la trace centrale monte jusqu'au sommet laminaire. On remarque également chez *Ziziphus jujuba* (Fig. H, H1), qu'il monte jusqu'au stipule rachidien. Cependant, chez ce dernier, le toron unique se divise à son extrémité en trois parties dans le pétiole. Chez *Xanthoxylum rhesta* (Fig. I, I1), le noeud unilacunaire opposé comporte un toron multiple, mais ensuite, ces torons forment un cercle opposé unilacunaire d'amas vasculaires dans le pétiole qui comprend des folioles à toron unique. Chez *Gmelina arborea* (Fig. J, J1), un toron vasculaire unique part du noeud opposé unilacunaire et monte jusqu'au sommet laminaire.

DISCUSSION

Carlquist (1959) a fait une classification de la phyllotaxie suivant l'écartement entre les feuilles. Notre étude porte sur l'organisation nodale et pétioilaire des divers plantes nourricières primaires et secondaires du ver à soie Muga des familles : lauracées, célastracées, mélastomacées, rhamnacées, rutacées et verbénacées. L'organisation nodale de la famille des lauracées fait apparaître, uniformément, un noeud unilacunaire à toron unique. Cette caractéristique est importante d'un point de vue phylogénétique, et, plus particulièrement, pour l'identification phyllotaxique et systématique. Chez *Cinnamomum obustifolium* et *Ziziphus jujuba*, le toron vasculaire unique se divise, dans le pétiole, en trois parties qui montent jusqu'au sommet laminaire. Chez *Melastoma malabathrium*, un seul toron part de la stèle pour se diviser ensuite en six (3 + 3) parties vasculaires transversales à l'intérieur du pétiole. Ceci indique que la caractéristique du toron unique ou multiple émane du pétiole du limbe à partir du noeud unilacunaire à toron unique.

EFFECT OF CYTHION TREATMENT ON PIERCED/CUT COCOONS

V.G. HALLIYAL & K.H. SINNUR

Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560062, India.

Keywords : Degumming loss %, bundle strength of fibres, yarn yield percentage, hand-spun yarn (Matka yarn), yarn realization.

INTRODUCTION

The cut and pierced cocoons stored in grainages were infested with beetles and earwigs. Cythion was dusted on these cocoons to control the infestation. (Details of the treatment have been reported in the paper entitled "Pests of *Bombyx mori* in grainages and their control" by Geetha Bai - Sericologia 28(3), 379-382).

The cut/pierced cocoons stored in grainages are utilized commercially for the production of hand-spun yarn. These cocoons can be easily hand-spun after mere degumming process, with the help of simple pedal operated charkas. Studies were carried out to ascertain the effect of this treatment of cocoons on fibre properties, processing performance and yarn yield percentages.

MATERIALS AND METHODS

The cocoon samples taken from 'treated' and 'control' (untreated) groups after 3 months were subjected to degumming test, fibre bundle strength testing. The degummed cocoon material was used for hand-spinning on "Chowdhury" charka.

RESULTS

The results of yarn realization and yarn yield percentage have been tabulated in Table I and Table II. The statistical analysis of the test results confirms that the treatment has not affected the cocoons regarding degumming loss percentage, fibre bundle strength and yarn realization percentage.

Table I. Details of comparative studies of degumming loss %, fibres strength, etc., of treated and untreated batches of bivoltine cocoons.

Tableau I. Détails des études comparatives sur le pourcentage de perte lors du décreusage, résistance de la fibre, etc., des lots de cocons bivoltins traités et non traités.

Sl n° N° série	Bivoltine control Témoins bivoltins				Bivoltine treated Bivoltins traités			
	Degumming loss <i>Perte au décreusage</i>	Bundle strength gpd. <i>Résistance du faisceau</i>	Yarn realization (from 25 gms.) <i>Réalisation du fil (/ 25 gms)</i>	Yarn yield <i>Rendement en fil</i>	Degumming loss <i>Perte au décreusage</i>	Bundle strength gpd. <i>Résistance du faisceau</i>	Yarn realization (from 25 gms.) <i>Réalisation du fil (/ 25 gms)</i>	Yarn yield <i>Rendement en fil</i>
	(%)	(g/denier)		(%)	(%)	(g/denier)		(%)
01	32.4	3.60	22.2	60.0	30.8	3.12	21.9	60.6
02	34.2	3.18	22.0	57.9	27.6	2.89	21.3	61.7
03	30.4	2.80	22.0	61.2	27.4	2.93	22.0	64.0
04	33.0	3.10	22.6	60.6	28.8	3.03	22.2	63.2
05	29.2	3.00	22.0	63.7	29.4	3.10	22.1	62.4
Mean	31.84	3.14	22.16	60.7	28.8	3.02	21.9	62.3
Moyenne								
Standard deviation	2.02	0.30	0.26	2.1	1.39	0.10	0.35	1.32
Ecart type								
Coefficient of variation %	6.30	9.55	1.20	3.5	4.8	3.31	1.60	2.1
% du coef. de variation								

Table II. Details of comparative studies of degumming loss, fibre strength etc., of treated and untreated batches of multivoltine cocoons.

Tableau II. Détails des études comparées sur la perte lors du décreusage, la résistance de la fibre etc., des lots de cocons polyvoltins traités et non traités.

Sl n° N° série	Multivoltine control <i>Témoins polyvoltins</i>				Multivoltine treated <i>Polyvoltins traités</i>			
	Degumming loss <i>Perte au décreusage</i>	Bundle strength gpd. <i>Résistance du faisceau</i>	Yarn realization (from 20 gms.) <i>Réalisation du fil (/ 20 gms.)</i>	Yarn yield <i>Rendement en fil</i>	Degumming loss <i>Perte au décreusage</i>	Bundle strength gpd. <i>Résistance du faisceau</i>	Yarn realization (from 20 gms.) <i>Réalisation du fil (/ 20 gms.)</i>	Yarn yield <i>Rendement en fil</i>
	(%)	(g/denier)		(%)	(%)	(g/denier)		(%)
01	32.2	3.34	15.8	53.6	35.0	2.68	15.2	49.4
02	29.4	3.45	16.7	59.0	29.8	3.30	15.9	55.8
03	32.4	3.12	16.3	55.1	36.2	2.67	15.8	50.2
04	33.6	2.78	16.5	54.8	33.6	3.05	15.8	52.5
05	31.8	3.27	16.6	56.6	34.6	2.99	16.0	52.3
Mean <i>Moyenne</i>	31.88	3.19	16.4	55.8	33.84	2.94	15.74	52.04
Standard deviation <i>Ecart type</i>	1.54	0.26	0.36	2.07	2.44	0.27	0.31	2.49
Coefficient of variation <i>Coef. de variation</i>	4.8	8.15	2.2	3.71	7.21	9.18	2.00	4.78

Note brève

EFFET DU TRAITEMENT AU CYTHION SUR LES COCONS PERCES OU COUPES

V.G. HALLIYAL & K.H. SINNUR

Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560062, Inde.

INTRODUCTION

Les cocons coupés ou percés stockés dans les grainages ont été infestés de coléoptères et de perce-oreilles. On les a aspergés de cythion afin d'enrayer cette infestation. Les détails du traitement sont exposés dans l'article intitulé "Pests of *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) in grainages and their control", Geetha Bai, Sericologia 29(3), 379-382.

Les cocons coupés ou percés stockés dans les grainages sont utilisés dans la production commerciale de fil de fabrication artisanale. Ces cocons sont faciles à filer manuellement, après décreusage, à l'aide de charkas actionnées par une simple pédale. Des expériences ont été réalisées afin de déterminer l'effet du traitement de ces cocons sur les propriétés de la fibre, la performance du process et le rendement en fil.

MATERIELS ET METHODES

Les échantillons de cocons prélevés sur les groupes "traités" et "témoins" (non traités) ont été soumis au test du décreusage et on a évalué la résistance du faisceau de la fibre. Les cocons dégommés ont été filés à la main sur une charka "Chowdhury".

RESULTATS

Les résultats portant sur la réalisation du fil et le pourcentage de rendement en fil sont détaillés dans les tableaux I et II. L'analyse statistique des résultats du test confirme que le traitement n'affecte pas les cocons en ce qui concerne le pourcentage de perte au cours du décreusage, la résistance du faisceau de la fibre et la réalisation du fil.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr. G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.

- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harward system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont *et coll.* sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1962) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.*
Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 x 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés-à-part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés-à-part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 50 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to : **Dr. G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 x 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 50 free reprints are sent by the Editor.

Directeur Gérant : Dr. H. BOUVIER

Dépot légal : 4ème trimestre 1989