

sericologia

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)

IATROU K. (Canada)

JOLLY M.S. (Inde / India)

KAWAKAMI K. (Japon / Japan)

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 / Japan)

PERSOONS C.J. (Netherlands)

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

- Review of literature on using nuclear polyhedrosis virus (Baculovirus) of silkworm, *Bombyx mori* L., as a vector for foreign gene expression 269
Revue bibliographique sur l'utilisation du virus de la polyédrose nucléaire (Baculovirus) du ver à soie, *Bombyx mori* L., comme vecteur d'expression de gènes étrangers 277
C.S. PATIL, S.B. DANDIN

Articles Originaux / Original papers

- Effet d'anesthésies répétées au CO₂ pur sur la croissance des chenilles de *Bombyx mori* 283
Effect of repeated CO₂ anaesthesia on the growth of *Bombyx mori* larvae 289
D. SILLANS
- Heterosis analysis in the silkworm, *Bombyx mori* L. 293
Analyse de l'hétérosis chez le ver à soie *Bombyx mori* L. 301
RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU, P. RAMAMOHANA RAO,
V. PREMALATHA, K. VIJAYARAGHAVAN, S.K. GUPTA
- Selection for resistance to a pathogenic bacterium in laboratory populations of the silkworm, *Bombyx mori* L. 305
Sélection de vers à soie *Bombyx mori* résistants à une bactérie pathogène dans des populations maintenues en laboratoire 311
B.D. SINGH, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA, M. BAIG
- Effect of various mountages on the cocooning of the muga silkworm, *Antheraea assama* Westwood 313
Effet de divers encabanages sur le filage du ver à soie muga *Antheraea assama* Westwood 323
A. BARAH, M.V. SAMSON

Evaluation of germplasm genotypes for drought resistance in mulberry . . .	327
Evaluation de génotypes de mûriers en fonction de leur résistance à la sécheresse	343
B.N. SUSHEELAMMA, M.S. JOLLY, K. GIRIDHAR, K. SENGUPTA	
Screening of mulberry varieties for rooting and induction of rooting by the use of growth regulators	347
Evaluation de variétés de mûrier pour le racinement et l'induction du racinement par des régulateurs de croissance	363
R.K. FOTADAR, M.M. AHSAN, K.L. DHAR, A. DHAR	
Factors influencing <i>in vivo</i> determinations of nitrate reductase (EC 1.6.6.1) activity in mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	369
Facteurs influençant les mesures de l'activité de la nitrate réductase (EC 1.6.6.1) <i>in</i> <i>vivo</i> chez les feuilles de mûrier (<i>Morus alba</i> L.)	381
K. PALIWAL, M. ILANGO VAN	
Chemical control of the mulberry thrips, <i>Pseudodendrothrips mori</i> (Niwa) . .	385
Traitement chimique contre le thrips du mûrier <i>Pseudodendrothrips mori</i> (Niwa)	389
YE Y-B., GU Z-F.	
Revue signalétique / Bibliography	393

REVIEW OF LITERATURE ON USING NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS (BACULOVIRUS) OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., AS A VECTOR FOR FOREIGN GENE EXPRESSION

C.S. PATIL* & S.B. DANDIN**

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

Transfer of desired foreign genes isolated from the donor to the recipient system requires a suitable vector. Recently, considerable attention has been given to Baculoviruses because of their distinct advantages. An attempt has been made to review the work done so far on Baculovirus vectors and to discuss the possible problems.

Keywords : Nuclear polyhedrosis virus, silkworm *Bombyx mori*, Baculovirus, foreign gene expression vector.

The viruses attacking the silkworm, *Bombyx mori* L., can be divided into two main groups ; those which are occluded in protein crystals of different types forming inclusion bodies called polyhedra (Aizawa, 1963) and those which are free in the tissues, never forming inclusion bodies ex. infectious flacherie virus (Yamazaki *et al.*, 1960). The nuclear polyhedrosis virus of the silkworm, *Bombyx mori*, (BmNPV) belongs to the former group and is known to cause a serious systemic disease (Kelly, 1987) called 'grasserie', (Bergold, 1963). Recently, nuclear polyhedrosis viruses have been included in a newly formed genus, *Baculovirus*, of the family - Baculoviridae (Vago *et al.*, 1974). The main feature of the Baculovirus is the occlusion of virions in a crystalline protein matrix in the nuclei of the host cells. The genetic information of Baculoviruses is stored in the form of a relatively large molecule of covalently-closed double-stranded DNA ranging in size from 50×10^6 to 100×10^6 daltons (Burgess, 1977 ; Kelly, 1977).

Genetic engineering techniques have been considered to be most useful for the improvement of characters in mulberry and silkworms (Patil, 1989). Biosynthesis of fibroin and sericin in the silk gland and its molecular aspects have been widely documented (Chevallard *et al.*, 1986 ; Couble *et al.*, 1983, 1987 ; Gamo *et al.*, 1977 ; Hirose and Suzuki, 1988 ; Ishikawa and Suzuki, 1988 ; Kimura *et al.*, 1985 ; Kurata, 1987 ; Machida, 1927 ; Michaille *et al.*, 1986 ; Mounier and Prudhomme, 1986 ; Ohata *et al.*, 1988 ; Suzuki *et al.*, 1986 ; Suzuki and Suzuki, 1988 ; Ueda *et al.*, 1984) and the DNAs encoding both proteins were cloned using gene manipulation techniques. Over the last few years a good amount of research has been done on cloning specific genes from the silkworm, *Bombyx mori* L. (Inagaki *et al.*, 1988 ; Ijumi *et al.*, 1988 ; Matizaki, 1986 ; Hara and Suzuki, 1988). Although the cloning done so far involves mainly the gene related with chorion and different fibroin proteins, the efforts are on the progress for recombination of foreign genes encoding enzymes into silkworms to improve efficiency in feeding on mulberry leaves and in protein synthesis of silkworm larvae and

* Scientific Officer, KSSDI. ** Director, KSSDI, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India.

development of resistance. More recently, the silkworm system appeared as one of the most convenient models for studying gene expression during development and differentiation at the molecular level (Chavancy, 1984). However, foreign genes cannot be directly introduced into host cells to express their characters. Therefore, it became apparent to find a suitable vector which makes it possible to carry appropriate DNA and to establish the techniques for the introduction of foreign DNA into silkworm cells (Gamo, 1983). The development of such vectors will provide a powerful new tool for the study of the molecular biology of silkworm gene systems.

Recently, lepidopteran NPVs have received considerable attention because of their potential as high efficiency expression vectors for the production of foreign proteins in lepidopteran tissue culture cells or *in vivo* (Iatrou *et al.*, 1985). The advantages of lepidopteran NPVs as expression vectors when compared to other animal virus expression systems have been summarized by Summers (1988) as : 1. High level expression of foreign genes under the transcriptional control of the strong polyhedrin gene promoter. 2. Baculoviruses are safe and are not pathogenic or oncogenic for vertebrates and other insect cells. 3. It is a quick, constant and reliable system for gene cloning and expression. 4. Authentic proteins are abundantly produced.

In addition, the vector system is widely distributed and may be used for the cloning, expression and study of several genes of medical and agricultural importance (Luckow and Summers, 1988). The major limitation of the system appears to be the lack of knowledge on the molecular biology of lepidopteran cells.

The protein matrix of occluded bodies of NPVs consists mainly of one protein termed polyhedrin which accounts for more than 95 % of the total protein in the viral occlusion (Heng *et al.*, 1985). The polyhedrin is soluble in alkaline solutions and upon ingestion by a susceptible insect, the occlusion bodies are dissolved in the alkaline pH of the silkworm midgut cells into the haemolymph which spreads the infection to other cells. The subsequent systemic infection reaches a final stage at which virions containing occlusion bodies are produced. Thus, polyhedrin forms a protective crystal around the virus and resists solubilization except under strictly alkaline conditions similar to that found in the insect midgut. Both these properties allow the virus to remain viable for many years outside the insect cells. In addition to polyhedrin, the NPVs produce another over-expressed gene product ; a 10,000 mol. wt. protein called p₁₀, which is a non-structural protein of unknown function (Kuzio *et al.*, 1984) and this protein appears to be under the same regulatory control as polyhedrin, but is not as structurally conserved as polyhedrin (Rohrmann, 1986).

Baculoviruses exhibit a complex replication both *in vivo* and in cell culture, producing infectious forms with different biological and structural properties (Smith and Summers, 1978). For example, *Autographa californica* NPV (AcNPV) is known to produce infectious forms at least : a) viruses occluded in the nucleus as single nucleocapsid per envelope (singles), b) as multiple nucleocapsids per envelope (multiples) and c) extracellular virus that is budded from the plasma membrane (Summer and Volkman, 1976 ; Volkman *et al.*, 1976). The structural polypeptide composition of AcNPV singles and multiples is found to be quantitatively and qualitatively different (Smith and Summers, 1978).

The polyhedrin gene is highly expressed at the late stage in the infection cycle and it is not essential for viral stability *in vitro* but yet essential for viral stability and transmission in the environment (Heng *et al.*, 1985). The regulatory mechanism governing the synthesis of polyhedrin is of considerable interest because polyhedrin mRNA produced in larger amounts than perhaps any other viral product of infected eukaryotic cells.

The deletion or insertional inactivation of the polyhedrin gene results in the production of occlusion negative viruses, which form plaques (occ⁻) that are distinctly different from those of wild type occlusion positive (occ⁺) viruses. These distinctive plaque morphologies provide the way for screening for recombinant viruses in which the wild type NPV polyhedrin gene can be replaced with

a hybrid gene of the choice. The non-essential nature and high levels of expression of the polyhedrin gene and the ease of detecting recombinant occ^- viruses, make the promoter site of polyhedrin gene particularly suitable for engineering as an expression vector (Summers and Smith, 1988). With the advent of recombinant DNA technology, it became apparent that the polyhedrin gene might represent a site of the viral genome amenable to gene manipulation, such as the introduction of foreign genes into the DNA of the virus (Iatrou *et al.*, 1985). The earlier studies on the structure of the polyhedrin gene from spontaneous, chemically induced or *in vitro* constructed mutants showed mutational changes in the gene or its immediate vicinity (Carstens, 1982 ; Duncan *et al.*, 1983 ; Smith *et al.*, 1983) supported the idea that the polyhedrin gene site could be used for genetic engineering. During the past several years, the feasibility of AcNPV as a vector for high level expression of genes of prokaryotic and eukaryotic origin in insect tissue culture cells has been widely demonstrated (Kuroda *et al.*, 1986 ; Matsura *et al.*, 1987 ; Miyamoto *et al.*, 1985 ; Pennock *et al.*, 1984 ; Possee, 1986 ; Smith *et al.*, 1983 ; Smith *et al.*, 1985). Though BmNPV is a close relative of AcNPV in terms of morphologies, structural and functional characteristic (Harrap and Payne, 1979 ; Iatrou *et al.*, 1985 ; Manchev *et al.*, 1979, 1980), the molecular characterization of BmNPV has lagged far behind that of AcNPV. Such studies are prerequisite to the successful genetic manipulation of a particular site in a genome. It was demonstrated (Maeda *et al.*, 1985 ; Horiuchi *et al.*, 1987 ; Miyajima *et al.*, 1987) that BmNPV can be used with the same efficiency for the production of foreign products.

The primary structure of the polyhedrin protein of BmNPV has been worked out (Serebryani *et al.*, 1977). The complete amino acid sequence of BmNPV polyhedrin has shown that it is a protein consisting of a single peptide of 244 amino acids with a molecular weight of 28576 (Kozlov *et al.*, 1978). The cloning of Sal I restriction fragments of BmNPV DNA in *Echerichia coli* plasmid PBR 322 revealed that the sum of the molecular weight of cloned BmNPV DNA fragments accounted for 80 % of the virus genome DNA (Jihou *et al.*, 1985). Heng *et al.* (1985) screened cloned Sal I fragments of BmNPV DNA with the polyhedrin gene of AcNPV as a probe and thus a selected clone was mapped. On the other hand, Iatrou *et al.* (1985) showed that the primary structure of polyhedrin predicted from the nucleotide sequence of the gene is not identical to that derived from the protein itself (Kozlov *et al.*, 1981 ; Serebryani *et al.*, 1977) and that the BmNPV DNA genome is double-stranded with a size of 125 ± 4 kb. Further, the comparison of the polyhedrin genes of BmNPV and AcNPV revealed that the nucleotide sequences of both structural genes in the coding sequences have diverged significantly through the accumulation of silent and replacement substitutions. In contrast, a remarkable degree of sequence conservation was found to exist in the domains corresponding to the 5' and 3' non coding regions of polyhedrin mRNAs. Therefore, although a large number of point mutations were fixed in some domains of the gene during evolution, other domains and the proteins themselves have been subjected to considerable selective pressure (Iatrou *et al.*, 1985). In addition to conserved structural properties of polyhedrin proteins, there is a conserved regulatory process which controls the synthesis of massive amounts of polyhedrin and this is probably governed by a virus specific RNA polymerase (Rohrman, 1986). Smith *et al.* (1983) suggested that a Baculovirus vector, which is a helper independent recombinant Baculovirus, during infection can express abundant quantities of recombinant mRNAs and proteins of foreign genes under the control of the polyhedrin gene promoter region.

Although the feasibility of expressing foreign structural gene sequences under polyhedrin promoter control has been documented for both AcNPV and BmNPV, studies on the engineered NPV as a transducing vector have been rare. Iatrou *et al.* (1988) investigated the possibility of using BmNPV as a vector for transducing homologous (*B. mori*) genes of interest into the cells of the silkworm for the purpose of studying their expression under authentic promoter control *in vivo*. Such studies are most important because they demonstrate that appropriate vectors may be developed which allow the efficient introduction of complete transcription units comprising promoter elements, intervening sequences and 3' RNA processing signals into the tissues into which these units would normally be expressed (Iatrou and Meidinger, 1989).

The sequences immediately 5' to extending downstream polyhedrin start codon have been considered to be important in transcription. An alternative new transfer vector which would express foreign genes as non-fused proteins was developed (Luckow and Summers, 1989) because the addition of polyhedrin amino acids has undesirable effects on the cellular localization of foreign proteins in the inserted cells.

Then Luckow and Summers (1989) suggested three possible strategies to develop eukaryotic vectors in the expression of foreign genes under the control of heterologous promoters in the production of non-fused proteins. 1. Insertion of foreign gene downstream from 5' regulatory sequences of a strong promoter within 5' untranslated leader sequence but upstream from its coding sequences. 2. Construction of bicistronic messenger RNAs in which the termination codon in the frame of an upstream start codon occurred 5' to the start codon for a foreign gene. 3. Alteration of a start codon in a fusion vector to a sequence other than ATG.

Using the third strategy, Luckow and Summers (1989) demonstrated by altering the polyhedrin ATG start codon to ATT by site-directed mutagenesis to express foreign gene under the control of polyhedrin promoter that the sequences proximal to the polyhedrin start codon will have dramatic influence on the level of expression of foreign genes. Further, they are of the opinion that the level of expression not only varies for a given gene inserted into a variety of vectors, but unrelated genes inserted into the same vector can often express at different levels, indicating that factors other than transcription will have significant effects on the level of expression of foreign genes in Baculovirus vectors.

Anticipating the problem of transcriptional interference of the promoter element of polyhedrin gene with the non-viral promoter elements (inserted genes) present within the inserted DNA, Iatrou and Meidinger (1989) subjected the polyhedrin gene of BmNPV to deletion mutagenesis and eliminated the transcriptional competence of the promoter element of polyhedrin. As a result, two types of transfer vectors were obtained. First those which eliminate the polyhedrin gene sequences to +6 or -7 with respect to the translation initiation codon, maintain an active polyhedrin promoter and can be used to introduce passenger genes into the genome of BmNPV and expressing them at high levels in infected cells under polyhedrin promoter control. The second type is completely devoid of polyhedrin promoter activity but no other viral functions and can be used for the introduction of complete transcription units of host origin into the genome of BmNPV. Such studies are useful *in vivo* and tissue-specific expression of the passenger genes into the host organism without interference from the polyhedrin promoter.

Example utilization of both types of vectors has demonstrated that virally transduced genes are indeed expressed under the control of their own promoter in a tissue-specific manner (Iatrou and Meidinger, 1990). Furthermore it has been demonstrated that intron-containing primary transcripts produced in *B. mori* cells either under the control of the polyhedrin promoter or under the control of their own promoter are correctly processed post-transcriptionally into mature mRNAs which upon translation produce their encoded proteins (Iatrou *et al.*, 1989b; Iatrou and Meidinger, 1990). Thus, the BmNPV system can be used to introduce genes into the organisms.

Future emphasis must be placed on the regulation of the polyhedrin system elucidation of the regulatory signals governing transcription and the characterization of RNA polymerase which transcribes these genes (Iatrou and Meidinger, 1989).

The polyhedrin protein production of BmNPV increases to more than 50 % at late stage infection. In contrast, the quantities of gene products are very low (usually less than a few % of original polyhedrin). The reasons for the reduced expression of foreign gene are though several, one of the factors is the sequence between the promoter and translation start (Maeda, 1988). Therefore, in addition to above, the future research must concentrate to increase the efficiency of foreign gene production.

REFERENCES

- AIZAWA K. (1963), The nature of infections caused by nuclear polyhedrosis viruses. *In* Insect Pathology, ed. by E.A. Steinhaus, Academic Press, New York, Vol. I, 381-412.
- BERGOLD G.H. (1963), The nature of nuclear polyhedrosis virus. *In* Insect Pathology, ed. by E.A. Steinhaus, Academic Press, New York, Vol. I, 413-456.
- BURGES S. (1977), Molecular weights of lepidopteran Baculovirus DNAs, derivation by electron microscopy. *J. Gen. Virol.*, 37, 1-10.
- CARSTENS E.B. (1982), Mapping the mutation site of an *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus polyhedron morphology mutant. *J. Virol.*, 43, 809-818.
- CHAVANCY G. (1984), The silkworm, a very useful model system for basic molecular biology. *Sericologia*, 24(4), 565-568.
- CHEVILLARD M., COUBLE P., PRUDHOMME J.-C. (1986), Complete nucleotide sequence of the gene encoding the *Bombyx mori* silk protein p25 and predicted amino-acid sequence of the protein. *Nucleic Acids Res.*, 14(5), 6341-6342.
- COUBLE P., MICHAILLE J.-J., GAREL A., COUBLE M.-L., PRUDHOMME J.-C. (1987), Developmental switches of sericin mRNA splicing in individual cells of *Bombyx mori* silkgland. *Develop. Biol.*, 124, 431-440.
- DUNCAN R., CHUNG K.L., FAULKNER P. (1983), Analysis of a mutant of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus with a defect in the morphogenesis of the occlusion body macromolecular lattice. *J. Gen. Virol.*, 64, 1531-1542.
- GAMO T. (1983), Biochemical genetics and its application to the breeding of the silkworm. *JARQ*, 16(4), 264-272.
- GAMO T., INOKUCHI T., LAUFER H. (1977), Polypeptides of fibroin and sericin secreted from the different sections of the silk gland in *Bombyx mori* L. *Insect Biochem.*, 7, 285-295.
- HARA W., SUZUKI Y. (1988), Cloning and expression of homeobox containing gene in *Bombyx mori* L. *In* 1st Int. Workshop on the molecular biology and molecular genetics of Lepidoptera (5-10 Sept. 88), Crete, Greece.
- HARRAP K.A., PAYNE C.C. (1979), The structural properties and identification of insect viruses. *Adv. Virus Res.*, 25, 273-355.
- HENG W., JIHOU X., MAOZHI G., ZAIPING L. (1985), The polyhedrin gene of *Bombyx mori* L. Nuclear polyhedrosis virus. *Scientica Sinica (B)*, 28(10), 1051-1059.
- HIROSE S., SUZUKI Y. (1988), In vitro transcription of eukaryotic genes is affecting differently the degree of DNA supercoiling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 718-722.
- HORIUCHI T., MARUMOTO Y., SAEKI Y., SATO Y., FURUSAWA M., KONDA A., MAEDA S. (1987), High level expression of the human interferon gene through the use of an improved Baculovirus vector in silkworm, *Bombyx mori*. *Agri. Biol. Chem.*, 51(6), 1573-1580.
- IATROU K., ITO K., WITKIEWICZ H. (1985), Polyhedrin gene of *Bombyx mori*. Nuclear polyhedrosis virus. *J. Virol.*, 54(2), 436-445.
- IATROU K., MEIDINGER R.G., SCHMIEL D.H., TRAN M., MOLNAR E.M., VIEIRA A.V. (1988), Towards the development of a vector for transducing homologous and foreign genes into silkworm tissue culture cells and animals. *Endocrinological frontiers in physiological Insect Ecology*, ed. by F. Sehnael, A. Zabiza and D.L. Denlinger, Wrocław Technical Univ. Press., 1056-1073.
- IATROU K., MEIDINGER R.G. (1989), *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus-based vectors for expressing passenger genes in silkworm cells under viral or cellular promoter control. *Gene*, 75, 59-71.
- IATROU K., MEIDINGER R.G. (1990), Tissue-specific expression of silkworm chorion genes *in vivo* using *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus as a transducing vector. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (in press).
- IATROU K., MEIDINGER R.G., GOLDSMITH M.R. (1989), Recombinant Baculoviruses as vector for identifying proteins encoded by intron-containing members of complex multigene families. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 9129-9133.
- INAGAKI S., NAKAMURA K., KOBAYASHI M., YAMASHITA O. (1988), Cloning of a cDNA coding for egg specific protein of the silkworm *Bombyx mori* L. using an *E. coli* expression vector. *J. Sericult. Sci. Jpn.*, 56(5), 394-397.

- ISHIKAWA E., SUZUKI Y. (1985), Tissue - and stage - specific expression of sericin genes in the middle silkgland of *Bombyx mori*. Develop. Growth and Diff., 27-73-82.
- IZUMI S., SAKURAI H., FUJI T., IKEDA W., TOMINO S. (1988), Cloning of mRNA sequence coding for sex specific storage protein of *Bombyx mori*. Biochem. Biophys. Acta, 949, 181-188.
- JIHOU X., MAOZHI G., MINTANG L., ZAIPING L. (1985), The cloned Sal I fragments of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus DNA. Scientia Sinica (B), 28(1), 42-48.
- KELLY D.C. (1977), The DNA contained by nuclear polyhedrosis viruses isolated from four *Spodoptera* sp. (Lepidoptera, Noctuidata) : genome size and homology assessed by DNA reassociation kinetics. Virology, 76, 468-471.
- KELLY D.C. (1987), Baculoviridae. In Animal virus structure. Elsevier Science Publishers, New York, 349-360.
- KIMURA K., OYAMA F., UEDA H., MIZUNE S., SHIMURA K. (1985), Molecular cloning of the fibroin light chain complementary DNA and its use in the study of the expression of the light chain gene in the posterior silkgland of *Bombyx mori*. Experientia, 41, 1167-1171.
- KOZLOV E.A. *et al.* (1978), Sov. J. Bioorg. Khim., 4, 767-771.*
- KOZLOV E.A., LEVITINA T.L., GUSAK N.M., SEREBRYANI S.B. (1981), Comparison of the amino acid sequence of inclusion body proteins of nuclear polyhedrosis viruses, *Bombyx mori*, *Porthetria dispar* and *Galleria mellonella*. J. Bioorg. Khim., 7, 1008-1015.*
- KURATA K. (1987), Relationship between the amount of silk and nucleic acids in the silkgland of *Bombyx mori*. JARQ, 21(3), 211-217.
- KURŌDA K., HAUSER C., ROTT R., KLENK H.D., DOERFLER W. (1986), Expression of the influenza virus haemagglutinin in insect cells by a Baculovirus vector. EMBO J., 5, 1359-1365.
- KUZIO J., ROHEL D.Z., CURRY C.J., KREBS A., CARSTENS E.B., FAULKNER P. (1984), Nucleotide sequence of the p¹⁰ polypeptide gene of AcNPV. Virology, 139, 414-418.
- LUCKOW V.A., SUMMERS M.D. (1988), Trends in the development of Baculovirus expression vectors. Biotechnology, 6, 47-55.
- LUCKOW V.A., SUMMERS M.D. (1989), High level expression of non-fused foreign genes with *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus expression vectors. Virology, 170, 31-39.
- MACHIDA J. (1927), On the secretion of the silk substances in the silkworm (*Bombyx mori*). J. Coll. Agr. Univ. Tokyo, 9, 119-138.*
- MANCHEV M., YANCHEV I. (1979), Ultrastructural studies on the morphogenesis and structure of the nuclear polyhedrosis virus in the silkworm, *Bombyx mori* L. Vet. Med. Nauki, 16, 71-79.*
- MANCHEV M., TUONG VAN T.T., YANCHEV I. (1980), Pathological and ultrastructural studies on the nuclear polyhedrosis virus in the silkworm (*Bombyx mori* L.). Vet. Med. Nauki, 17, 9-18.*
- MAEDA S. (1988), Genetic engineering of Baculoviruses. Sericologia, 28, 90-92.
- MAEDA S., KAWAI T., OBINATA M., FUJIWARA H., HORIUCHI T., SAEKI Y., SATO Y., FURUSAWA M. (1985), Production of human interferon in silkworm using a Baculovirus vector. Nature, 315, 592-594.
- MALTIZAKI K. (1986), Cloning of tRNA genes from mutant silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Jpn., 55(6), 447-450.
- MARUMOTO Y., SATO Y., FUJIWARA H., SAKANO K., SAEKI Y., AGATA M., FURUSAWA M., MAEDA S. (1987), Hyperproduction of polyhedrin IGFII fusion protein in silkworm larvae infected with recombinant *Bombyx mori*. Nuclear polyhedrosis virus. J. Gen. Virol., 68, 2599-2606.
- MATSURA Y., POSSE R.D., OVERTON H.A., BISHOP D.H.L. (1987), Baculovirus expression vectors the requirements for high level expression of proteins including glycoproteins. J. Gen. Virol., 68, 1233-1250.
- MICHAÏLLE J.-J., COUBLE P., PRUDHOMME J.-C., GAREL A. (1986), A single gene produces multiple sericin messenger RNAs in the silkgland of *Bombyx mori*. Biochimie, 68, 1165-1173.
- MIYAJIMA A., SCHREURS Y., OTSU K., KONDA A., ARAI K., MAEDA S. (1987), Use of the silkworm, *Bombyx mori* and an insect Baculovirus for high level expression and secretion of biologically active mouse interleukin-3. Gene, 58, 273-281.
- MIYAMOTO C., SMITH G.E., FARRELL-TOWT J., CHIZZONITE R., SUMMERS M.D., JU G. (1985), Production of human C-myc protein in insect cells infected with a Baculovirus expression vector. Mol. Cell. Biol., 5, 2860-2865.

- MOUNIER N., PRUDHOMME J.-C. (1986), Isolation of actin gene expressed in the silk gland is interrupted by a single intron in an unusual position. *Biochimie*, 68, 1053-1061.
- OHATA S., SUZUKI Y., HARA W., TAKIYA S., SUZUKI T. (1988), Fibroin gene transcription in the embryonic stages of the silkworm, *Bombyx mori*. *Develop. Growth and Differ.*, 30(3), 293-299.
- PATIL C.S. (1989), Application of biotechnology to sericulture. *Indian Silk*, 28(5), 8-10.
- PENNOCK G.D., SHOEMAKER C., MILLER L.K. (1984), Strong and regulated expression of *Escherichia coli* B-galactosidase in insect cells with a Baculovirus vector. *Mol. Cell. Biol.*, 4, 399-406.
- POSSEE R.D. (1986), Cell-surface expression of influenza virus haemagglutinin in insect cells using a Baculovirus vector. *Virus Res.*, 5, 43-59.
- ROHRMANN G.F. (1986), Polyhedrin structure. *J. Gen. Virol.*, 67, 1499-1513.
- SEREBRYANI S.B., LERITINA T.L., KAUTSMAN M.L., RADAYSKI Y.L., GUSAK N.M., OVANDER M.N., SUCHARENKA N.V., KOZLOV E.A. (1977), The primary structure of the polyhedrin protein of nuclear polyhedrin virus (NPV) of *Bombyx mori*. *J. Invertebr. Pathol.*, 30, 442-443.
- SMITH G.E., FRASER M.J., SUMMERS M.D. (1983a), Molecular engineering of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus genome deletion mutations within the polyhedrin gene. *J. Virol.*, 46, 584-593.
- SMITH G.E., SUMMERS M.D., FRASER M.J. (1983b), Production of human beta interferon in insect cells infected with a Baculovirus expression vector. *Mol. Cell. Biol.*, 3, 2156-2165.
- SMITH G.E., JU G., ERICSON B.L., MOSCHERA J., LAHM H., CHIZZONITE R., SUMMERS M.D. (1985), Modification and secretion of human interleukin 2 produced in insect cells by a Baculovirus expression vector. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 8404-8408.
- SMITH G.E., SUMMERS M.D. (1978), Analysis of Baculovirus genomes with restriction endonucleases. *Virology*, 89, 517-527.
- SUMMERS M.D. (1988), Baculovirus directed foreign gene expression. Abstract. 1st Inter. Workshop Mol. Biol. and Genetics of Lepidoptera, Crete, Greece.
- SUMMERS M.D., SMITH G.E. (1988), A manual of methods for Baculovirus vectors and insect cell culture procedures. The Texas A & M. Univ., Texas.
- SUMMERS M.D., VOLKMAN L.E. (1976), Comparison of biophysical and morphological properties of occluded and extracellular non-occluded Baculovirus from in vivo and vitro host systems. *J. Virol.*, 17, 962-972.
- SUZUKI T., SUZUKI Y. (1988), Interaction of composite protein complex with the fibroin enhancer sequence. *J. Biol. Chem.*, 263(12), 5979-5986.
- SUZUKI Y., TSUDA M., TAKIYA S., HIROSE S., SUZUKI E., KAMEDA M., NINAK O. (1986), Tissue-specific transcription enhancement of the fibroin gene characterized by cell-free systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 9522-9526.
- UEDA H., HYODO A., TAKEI F., SASAKI H., OHSHIMA Y., SHIMURA K. (1984), Sequence polymorphisms in the 5'-upstream region of the fibroin H-chain gene in the silkworm, *Bombyx mori*. *Gene*, 28, 241-248.
- VAGO C., AIZAWA K., IGNOFFO C., MARTIGNONI M.E., TARASEVITCH L., TINSLEY T.W. (1974), Present status of the nomenclature and classification of invertebrate viruses. *J. Invertebr. Pathol.*, 23, 133-134.
- VOLKMAN L.E., SUMMERS M.D., HSIEH C.H. (1976), Occluded and non-occluded nuclear polyhedrosis virus grown in *Trichoplusia ni*: Comparative neutralization, comparative infectivity and *in vitro* growth studies. *J. Virol.*, 19, 820-832.
- VLAK J.M., SMITH G.E., SUMMERS M.D. (1981), Hybridization, selection and *in vitro* translation of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus mRNA. *J. Virol.*, 40, 762-771.
- YAMAZAKI H., SAKAI E., SHIMODAIRA M., YAMADA T. (1960), Studies on the infectious flacherie (F-type) of silkworm, *Bombyx mori* L., *Bull. Nagano Ken Sericult. Expt. Sta.*, 61, 1-28.

* Originals not referred.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'UTILISATION DU VIRUS DE LA POLYEDROSE NUCLEAIRE (BACULOVIRUS) DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. COMME VECTEUR D'EXPRESSION DE GENES ETRANGERS

C.S. PATIL* & S.B. DANDIN**

Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.

Le transfert de gènes étrangers isolés à partir du donneur au système du receveur demande un vecteur adéquat. Récemment, une grande attention a été portée aux Baculovirus en raison de leurs avantages évidents. Nous avons tenté de rendre compte du travail réalisé jusqu'à présent sur les vecteurs Baculovirus et de discuter des problèmes posés.

Les virus qui infectent le ver à soie *Bombyx mori* L. peuvent être divisés en deux groupes principaux : ceux qui sont occlus dans des cristaux protéiques de différents types, formant des corps d'inclusion appelés polyèdres (Aizawa, 1963) et ceux qui sont libres à l'intérieur des cellules et ne forment jamais de corps d'inclusion, par exemple, le virus de la flacherie infectieuse (Yamazaki et coll., 1960). Le virus de la polyédrose nucléaire du ver à soie *Bombyx mori* (BmNPV) appartient au premier groupe et on sait qu'il cause une grave maladie systémique (Kelly, 1987) appelée "grasserie" (Bergold, 1963). Récemment, les virus de la polyédrose nucléaire ont été classés dans un groupe nouvellement formé, les Baculovirus, de la famille des baculoviridés (Vago et coll., 1974). La principale caractéristique du Baculovirus est d'occlure les virions dans une matrice protéique cristalline dans les noyaux des cellules hôtes. L'information génétique des Baculovirus est stockée sous forme d'une molécule relativement grande d'ADN bicaténaire fermée de manière covalente d'une taille de 50×10^6 à 100×10^6 daltons (Burgess, 1977 ; Kelly, 1977).

Les techniques de génie génétique sont considérées comme étant les plus aptes à améliorer les caractères du mûrier et du ver à soie (Patil, 1989). Une documentation importante existe sur la biosynthèse de la fibroïne et de la séricine dans la glande séricigène et ses aspects moléculaires (Chevallard et coll., 1986 ; Couble et coll., 1983 ; Gamo et coll., 1977 ; Hirose et Suzuki, 1988 ; Ishikawa et Suzuki, 1988 ; Kimura et coll., 1985 ; Kurata, 1987 ; Machida, 1927 ; Suzuki et coll., 1986 ; Suzuki et Suzuki, 1988 ; Ueda et coll., 1984) et les ADN codant pour les deux protéines ont été clonés par les techniques de manipulation génétique. Depuis quelques années, un grand nombre de travaux ont porté sur le clonage de gènes spécifiques du ver à soie *Bombyx mori* L. (Inagaki et coll., 1988 ; Ijumi et coll., 1988 ; Matlizaki, 1986 ; Hara et Suzuki, 1988). Bien que les clonages réalisés jusqu'à présent concernent principalement les gènes du chorion et de différentes protéines de la fibroïne, la recherche progresse au niveau de la recombinaison chez le ver à soie des gènes étrangers codant pour les enzymes afin d'améliorer l'efficacité de l'alimentation par les feuilles de mûrier et de la synthèse protéique chez les larves ainsi que le développement de leur résistance. Plus récemment, le système du ver à soie est apparu comme l'un des modèles les mieux adaptés pour étudier

* Chercheur scientifique, KSSDI. ** Directeur, KSSDI, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.

l'expression des gènes au cours du développement et de la différenciation au niveau moléculaire (Chavancy, 1984). Cependant, les gènes étrangers ne peuvent pas être directement introduits dans les cellules hôtes pour exprimer leurs caractères. Il a donc paru nécessaire de trouver un vecteur approprié qui permette de porter l'ADN recherché et d'établir les techniques d'introduction d'ADN étranger dans les cellules du ver à soie (Gamo, 1983). Le développement de vecteurs de ce type fournirait un outil remarquable pour l'étude moléculaire des systèmes des gènes du ver à soie.

Depuis quelques années, on accorde beaucoup d'attention aux NPV des lépidoptères en raison de leur important potentiel comme vecteurs d'expression pour la production de protéines étrangères dans les cellules en culture ou *in vivo* (Iatrou et coll., 1985). Les avantages des NPV de lépidoptères comme vecteurs d'expression par rapport aux autres systèmes d'expression de virus chez d'autres animaux ont été résumés par Summers (1988), ceux-ci sont : 1. Un haut degré d'expression de gènes étrangers sous le contrôle transcriptionnel du promoteur fort du gène de la polyédrine. 2. Les Baculovirus sont sûrs, n'étant ni pathogènes ni oncogènes pour les vertébrés et les autres cellules d'insectes. 3. C'est un système rapide, cohérent et fiable pour le clonage des gènes et leur expression. 4. Des protéines parfaites sont produites en abondance.

Par ailleurs, le système du vecteur est largement répandu et peut être utilisé pour le clonage, l'expression et l'étude de nombreux gènes d'intérêt médical et agricole (Luckow et Summers, 1988). Le principal point faible de ce système semble résider dans le manque de connaissances sur la biologie moléculaire de la régulation du gène de la polyédrine et sur celle des cellules de lépidoptères.

La matrice protéique des corps d'inclusion des NPV est constituée principalement d'une protéine dénommée polyédrine qui représente près de 95 % du total des protéines dans l'occlusion virale (Heng et coll., 1985). La polyédrine est soluble dans des solutions alcalines et après ingestion par un insecte sensible, les corps d'inclusion se dissolvent au pH alcalin dans l'intestin moyen du ver à soie, libérant les virions et permettant l'infection des cellules de l'intestin. Au début de l'infection, les virions non occlus s'absorbent à la membrane plasmique des cellules de l'intestin et passent dans l'hémolymphe, ce qui transmet l'infection aux autres cellules. L'infection systémique qui s'ensuit atteint son stade final au cours duquel sont produits les corps d'inclusion contenant les virions. De ce fait, la polyédrine forme un crystal protecteur autour du virus et résiste à la solubilisation hormis dans des conditions strictement alcalines similaires à celles que l'on trouve dans l'intestin de l'insecte. Ces deux propriétés permettent au virus de rester viable pendant plusieurs années à l'extérieur des cellules de l'insecte. Outre la polyédrine, les NPV fabriquent un autre produit de gène surexprimé : une protéine d'un poids moléculaire de 10 000 appelé p_{10} qui n'est pas une protéine de structure et dont la fonction est inconnue (Kuzio et coll., 1984). Il semblerait que cette protéine soit sous le même contrôle régulateur que la polyédrine, mais n'ait pas une structure aussi conservée que celle de la polyédrine (Rohrmann, 1986).

Les Baculovirus présentent une réplication complexe tant *in vivo* que dans les cultures cellulaires, produisant des formes infectieuses aux propriétés structurelles et biologiques variées (Smith et Summers, 1978). Ainsi, on sait que le NPV d'*Autographa californica* (AcNPV) produit au moins trois formes infectieuses : a) des virus occlus dans le noyau sous la forme d'une nucléocapside simple par enveloppe (simples), b) sous la forme de nucléocapsides multiples par enveloppe (multiples) et c) un virus extracellulaire qui traverse la membrane plasmique (Summer et Volkman, 1976 ; Volkman et coll., 1976). Les compositions structurelles des polypeptides des AcNPV simples et multiples s'avèrent quantitativement et qualitativement différentes (Smith et Summers, 1978).

Le gène de la polyédrine s'exprime fortement au dernier stade du cycle de l'infection et, s'il n'est pas indispensable à la stabilité virale *in vitro*, il l'est à sa stabilité virale et sa transmission dans l'environnement (Heng et coll., 1985). Le mécanisme régulateur qui gouverne la synthèse de la polyédrine est d'un intérêt capital car les ARNm de polyédrine sont produits dans des quantités nettement plus importantes que n'importe quel autre produit viral dans les cellules eucaryotes infectées.

L'inactivation du gène de la polyédrine par délétion ou insertion se traduit par la production de virus d'occlusion négative formant des plaques (occ⁻) qui se distinguent de celles des virus d'occlusion positive (occ⁺) du type sauvage. Ces morphologies distinctes des plaques permettent de sélectionner des virus recombinants dans lesquels le gène de la polyédrine du NPV de type sauvage peut être remplacé par un gène hybride choisi. Le caractère non essentiel du gène de la polyédrine, son niveau élevé d'expression et la facilité de détection des virus occ⁻ recombinants rend le site du promoteur du gène de la polyédrine particulièrement approprié à l'ingénierie en vue d'obtenir un vecteur d'expression (Summers et Smith, 1988). Depuis l'avènement de la technologie de recombinaison de l'ADN, il est apparu que le gène de la polyédrine pourrait constituer un site du génome viral adapté à la manipulation génétique, telle que l'introduction de gènes étrangers dans l'ADN du virus (Iatrou et coll., 1985). Les travaux antérieurs sur la structure du gène de la polyédrine à partir de mutants spontanés, induits chimiquement ou construits *in vitro* ont déterminé diverses mutations dans le gène ou dans son environnement immédiat (Carstens, 1982 ; Duncan et coll., 1983 ; Smith et coll., 1983), confortant l'idée que le site du gène de la polyédrine pourrait être utilisé pour le génie génétique. Au cours de ces dernières années, on a largement démontré que l'AcNPV était un vecteur possible de forte expression des gènes d'origine procaryote et eucaryote dans les cultures de cellules d'insectes (Kuroda et coll., 1986 ; Matsura et coll., 1987 ; Miyamoto et coll., 1985 ; Pennock et coll., 1984 ; Possee, 1986 ; Smith et coll., 1983 ; Smith et coll., 1985). Bien que le BmNPV soit un proche parent de l'AcNPV au niveau des caractéristiques morphologique, structurelle et fonctionnelle (Harrap et Payne, 1979 ; Iatrou et coll., 1985 ; Manchev et coll., 1979, 1980), la caractérisation moléculaire du BmNPV est en retard par rapport à celle de l'AcNPV. De telles études sont la condition préalable à une bonne manipulation génétique d'un site donné du génome. Maeda et coll. (1985), Hioruchi et coll. (1987) et Miyajima et coll. (1987) ont démontré que le BmNPV peut être utilisé tout aussi efficacement pour produire des substances étrangères.

La structure primaire de la polyédrine du BmNPV a été déterminée (Serebyani et coll., 1977). La séquence complète des acides aminés de la polyédrine du BmNPV a montré qu'il s'agissait d'une protéine formée d'un seul peptide de 244 acides aminés d'un poids moléculaire de 18 576 (Kozlov et coll., 1978). Le clonage des fragments de restriction Sal I de l'ADN du BmNPV dans le plasmide PB5 322 d'*Echerichia coli* a permis de montrer que la somme des poids moléculaires des fragments clonés d'ADN du BmNPV représentaient 80 % de l'ADN du génome du virus (Jihou et coll., 1985). Heng et coll. (1985) ont sélectionné des fragments d'ADN du BmNPV Sal I clonés en utilisant le gène de la polyédrine de l'AcNPV comme sonde et ont ainsi cartographié le clone sélectionné. Par ailleurs, Iatrou et coll. (1985) ont montré que la structure primaire de la polyédrine déterminée à partir de la séquence nucléotidique du gène n'est pas identique à celle qui résulte de l'étude de la protéine elle-même (Kozlov et coll., 1981 ; Serebyani et coll., 1977) et que l'ADN du BmNPV est bicaténaire et d'une taille de 125 ± 4 kb. De plus, la comparaison des gènes de la polyédrine du BmNPV et de l'AcNPV a montré que les séquences nucléotidiques des deux gènes de structure dans les parties codantes divergent de manière significative par l'accumulation de substitutions silencieuses et de remplacement. Inversement, on a découvert un degré remarquable de conservation de la séquence dans les domaines correspondant aux régions non codantes 5' et 3' des ARNm de la polyédrine. Aussi, bien qu'un grand nombre de mutations ponctuelles se soient fixées dans certains domaines du gène au cours de l'évolution, d'autres domaines et les protéines elles-mêmes ont été soumis à une très forte pression de sélection (Iatrou et coll., 1985). Outre la conservation structurelle des polyédrines, il existe une conservation du processus régulateur qui régit la synthèse de grandes quantités de polyédrine et ceci est probablement gouverné par une ARN-polymérase spécifique du virus (Rohrman, 1986). Smith et coll. (1983) ont suggéré qu'un vecteur Baculovirus, qui est un Baculovirus recombinant indépendant auxiliaire ("helper"), peut exprimer, au cours de l'infection, de grandes quantités d'ARNm recombinants et de protéines de gènes étrangers sous le contrôle de la région promotrice du gène de la polyédrine.

Bien qu'il existe de nombreuses études sur la faisabilité de l'expression de séquences de gènes étrangers sous contrôle du gène de la polyédrine tant pour l'AcNPV que pour le BmNPV, peu de

travaux ont été faits sur le NPV artificiel comme vecteur de transduction. Iatrou et coll. (1988) ont fait des recherches sur la possibilité d'utiliser le BmNPV comme vecteur de transduction de gènes homologues (*B. mori*) dans les cellules du ver à soie afin d'étudier leur expression sous le contrôle réel du promoteur *in vivo*. De telles études sont de première importance car elles démontrent que l'on peut développer des vecteurs appropriés qui permettent une introduction efficace d'unités de transcription complètes comprenant les éléments du promoteur, les séquences introns et les signaux en 3' de maturation de l'ARN dans des tissus où ces unités s'exprimeraient normalement (Iatrou et Meidinger, 1989).

On estime que les séquences immédiatement adjacentes en 5' au codon initiateur de la polyédrine jouent un rôle important dans la transcription. On a développé un nouveau vecteur de transfert qui exprime les gènes étrangers sous forme de protéines non fusionnées (Luckow et Summers, 1989) car la présence d'acides aminés de la polyédrine a des effets indésirables sur la localisation cellulaire des protéines étrangères dans les cellules.

Luckow et Summers (1989) ont suggéré trois stratégies possibles pour développer des vecteurs eucaryotes pour l'expression de gènes étrangers sous le contrôle de promoteurs hétérologues en vue de la production de protéines non fusionnées. 1. Insertion du gène étranger en aval des séquences régulatrices en 5' du promoteur fort, à l'intérieur de la séquence leader non traduite en 5' mais en amont de ses séquences codantes. 2. Construction d'ARN messagers bicistroniques dans lesquels le codon terminal en phase avec un codon initiateur en amont se présente en 5' du cocon initiateur pour un gène étranger. 3. Modification d'un codon initial dans un vecteur de fusion en une séquence autre que ATG.

Au moyen de la troisième méthode, Luckow et Summers (1989) ont pu démontrer, en modifiant le codon initiateur ATG de la polyédrine en ATT par mutagenèse dirigée pour exprimer le gène étranger sous le contrôle du promoteur de la polyédrine, que les séquences adjacentes au codon initiateur de la polyédrine ont une influence marquée sur le niveau d'expression des gènes étrangers. De plus, ils estiment que le niveau d'expression ne varie pas seulement pour un gène donné inséré dans divers vecteurs, mais aussi que des gènes non apparentés, insérés dans le même vecteur, peuvent souvent s'exprimer à des niveaux différents, ce qui indique que des facteurs autres que la transcription auront des effets significatifs sur le niveau d'expression de gènes étrangers dans les vecteurs Baculovirus.

En prévision du problème de l'interférence transcriptionnelle entre l'élément promoteur du gène de la polyédrine et les éléments promoteurs non viraux (gènes insérés) présents à l'intérieur de l'ADN, Iatrou et Meidinger (1989) ont soumis le gène de la polyédrine du BmNPV à la mutagenèse par délétion et inactivé la compétence transcriptionnelle du promoteur de la polyédrine. Deux types de vecteurs de transfert ont ainsi pu être obtenus. Premièrement, ceux qui éliminent les séquences du gène de la polyédrine à +6 ou -7 par rapport au codon initiateur de traduction, conservent un promoteur de polyédrine actif et peuvent être utilisés pour introduire les gènes dans le génome du BmNPV et les exprimer à un niveau élevé dans les cellules sous le contrôle du promoteur de la polyédrine. Le deuxième type est complètement dépourvu d'activité promotrice de la polyédrine, mais pas des autres fonctions virales et peut être utilisé pour introduire des unités de transcription complètes de l'hôte dans le génome du BmNPV. De telles méthodes sont utiles pour l'étude *in vivo* et de l'expression tissulaire spécifique des gènes passagers dans l'organisme hôte sans qu'il y ait d'interférence avec le promoteur de la polyédrine.

Les exemples d'utilisation de ces deux types de vecteurs ont démontré que les gènes transduits par virus s'expriment en effet sous le contrôle de leur propre promoteur d'une manière spécifique au tissu (Iatrou et Meidinger, 1990). De plus, il a été démontré que les transcrits primaires contenant des introns produits dans les cellules de *B. mori* ou sous le contrôle de leur propre promoteur ou sous celui du promoteur de la polyédrine sont correctement maturés en ARNm qui, après cette traduction,

donnent leurs protéines codées (Iatrou et coll., 1989b ; Iatrou et Meidinger, 1990). Ainsi, le système du BmNPV peut être utilisé pour introduire des gènes dans les organismes.

Des recherches futures devront mettre l'accent sur la régulation du système de la polyédrine, l'élucidation des signaux régulateurs qui gouvernent la transcription et la caractérisation de l'ARN-polymérase qui transcrit ces gènes (Iatrou et Meidinger, 1989).

La production de polyédrine du BmNPV augmente de plus de 50 % au dernier stade de l'infection. A l'inverse, les quantités de produits des gènes sont très faibles (normalement, moins de quelques % de la polyédrine). Les raisons de la réduction de l'expression des gènes étrangers sont multiples, l'un des facteurs étant la séquence entre le promoteur et l'initiateur de la traduction (Maeda, 1988). Aussi, outre les travaux mentionnés ci-dessus, la recherche future devra viser à augmenter l'efficacité de la production de gènes étrangers.

EFFET D'ANESTHESIES REPETEES AU CO₂ PUR SUR LA CROISSANCE DES CHENILLES DE *BOMBYX MORI*

D. SILLANS

Laboratoire de Biométrie, URA CNRS n° 243, Université Claude Bernard, Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

Des anesthésies brèves (10 minutes dans le CO₂ pur) mais répétées ont été pratiquées tout au long du développement. Il n'y a aucun effet immédiat ni différé lorsque le traitement a lieu durant la période embryonnaire (au niveau des oeufs), par contre de forts retards de croissance sont enregistrés lorsque le traitement est appliqué durant le développement larvaire.

Mots-clés : anhydride carbonique, anesthésie répétée, taux de croissance, ver à soie.

INTRODUCTION

L'immobilisation des insectes, quand elle est nécessaire, est le plus souvent obtenue grâce à l'anhydride carbonique. Le fait que l'action de ce gaz persiste en présence d'un taux élevé d'oxygène indique qu'il s'agit bien d'une anesthésie et non la conséquence d'une anoxie (Edwards, 1971). De plus, l'effet est réversible et le CO₂ est un anesthésique connu chez les vertébrés. Cependant, si le CO₂ est efficace et d'un emploi très simple, plusieurs auteurs (Brooks, 1965 ; Tanaka, 1982 ; Woodring et coll., 1978) ont souligné des effets néfastes comme : une baisse de la fertilité, des retards de croissance ou une augmentation de la mortalité. Ces effets n'apparaissant le plus souvent qu'après des anesthésies répétées.

Les expériences que nous avons réalisées précédemment sur les vers à soie concernaient des anesthésies uniques effectuées généralement en fin de dernier âge larvaire (Sillans, 1978). Dans ces conditions, l'effet semblait tout à fait réversible. Il nous apparaît maintenant nécessaire de connaître si des traitements répétés et effectués tout au long du développement larvaire modifient la croissance de ces animaux.

MATERIELS ET METHODES

Les animaux utilisés appartiennent à la variété 200 × 300. Les oeufs sont incubés dans une étuve à 24°C. Les élevages sont menés à 22°C. Des oeufs provenant de deux pontes ont été répartis en 7 lots de 100 oeufs, chaque lot subissant un nombre variable d'anesthésies d'une durée de 10 minutes dans le CO₂ pur :

- le lot 1 n'est pas anesthésié (témoin),
- le lot 2 est anesthésié une fois (jour 1 de l'incubation),
- le lot 3 est anesthésié tous les cinq jours (jours 1, 6 et 11),
- le lot 4 est anesthésié tous les deux jours (jours 1, 3, 5, 7, 9, 11 et 13),
- le lot 5 est anesthésié tous les jours (jours 1 à 14),
- le lot 6 est anesthésié tous les jours pendant la première semaine d'incubation (jours 1 à 7),
- le lot 7 est anesthésié tous les jours pendant la deuxième semaine d'incubation (jours 8 à 14),

les anesthésies ayant lieu le matin à 10 heures. Pour chacun de ces lots, on mesure la durée de développement (les éclosions sont notées quotidiennement) et le pourcentage d'éclosion. A partir du lot témoin, 3 lots de 20 individus (1T, 1A, 1B) parmi les premiers éclos sont constitués. 1A est anesthésié une fois pendant chaque âge larvaire, 1B deux fois (soit respectivement 5 et 10 anesthésies de 10 minutes durant la vie larvaire). Pour tous les autres lots, 20 individus ont été conservés. Dans chaque cas, 10 parmi les 20 sont pesés régulièrement (20 ont été conservés pour prévenir tout risque de mortalité ou de croissance anormale) durant les cinq stades larvaires.

Une autre expérience a consisté à anesthésier tous les jours mais uniquement durant le dernier stade larvaire (qui est le plus utilisé expérimentalement chez cette espèce) des vers issus d'oeufs provenant d'une troisième ponte n'ayant subi aucun traitement. Trois lots ont été constitués, l'un subissant des anesthésies de dix minutes, un autre de trente minutes. Dix vers de chaque lot sont pesés quotidiennement.

Dans la plupart de ces expériences, nous avons utilisé des durées d'anesthésies de dix minutes dans le CO₂ pur car c'est cette durée qui produit l'effet maximum, celui-ci restant cependant comparable à celui observé avec des mélanges où le taux d'oxygène est au moins égal à celui de l'atmosphère. Pour des anesthésies plus longues dans le CO₂ pur, il se superpose l'effet de l'anoxie que nous avons voulu tester dans la dernière expérience.

RESULTATS

On constate sur le tableau I que le pourcentage d'éclosion diminue très légèrement et que la durée de développement augmente lorsque le nombre d'anesthésies est plus grand. En fait, il n'y a pas de différence significative même entre les valeurs extrêmes de chaque variable et la corrélation inverse entre les deux variables est elle-même non significative.

Tableau I. Variation du pourcentage d'éclosion et de la durée de développement embryonnaire (en heures) en fonction du nombre d'anesthésies.

Table I. Effect of the number of exposures on the hatching percentage and the embryonic development duration (hours).

Lot	Nombre d'anesthésies	Pourcentage d'éclosion	Durée du développement (en heures)
<i>Batch</i>	<i>Number of exposures</i>	<i>Hatching percentage</i>	<i>Development duration (hours)</i>
1	0	0,97	376,824
2	1	0,95	374,652
3	3	0,96	376,250
4	7	0,96	379,250
5	14	0,92	382,956
6	7	0,94	384,765
7	7	0,91	385,582

Les groupes 1 à 5 ont été anesthésiés quotidiennement à intervalles réguliers, les groupes 6 et 7 ont été anesthésiés tous les jours au cours de la première et de la deuxième semaine d'incubation respectivement.
For groups 1 to 5 anesthesia was at regular intervals and administered daily, for groups 6 and 7 respectively during the first and the second week of incubation.

Tableau II. Poids des vers (en mg) en fonction de l'âge et poids des cocons de chaque lot.

Table II. Larval weight (mg) during the development and cocoon weight of each batch.

Age en jours	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Lot 1B	Lot 1A
Age in days	Témoin Batch 1 Control	Batch 2	Batch 3	Batch 4	Batch 5	Batch 6	Batch 7	Batch 1B	Batch 1A
3	6,749 ± 0,313	6,837 ± 0,330	6,980 ± 0,330	6,946 ± 0,250	6,964 ± 0,140	6,839 ± 0,147	7,070 ± 0,265	6,694 ± 0,272	6,769 ± 0,165
7	27,02 ± 1,354	28,78 ± 1,915	28,68 ± 1,266	28,44 ± 1,134	28,60 ± 1,212	28,46 ± 0,927	28,40 ± 1,629	24,80 ± 0,919	29,85 ± 2,021
10	54,10 ± 1,436	55,33 ± 2,678	55,79 ± 2,523	55,52 ± 1,857	56,36 ± 1,850	54,90 ± 1,261	56,53 ± 2,292	52,70 ± 1,526	55,48 ± 4,166
13	166,2 ± 6,509	168,1 ± 13,62	167,2 ± 5,564	172,8 ± 7,055	171,4 ± 7,656	170,8 ± 6,698	172,8 ± 8,511	143,4 ± 9,495	156,9 ± 15,31
16	328,3 ± 17,80	316,2 ± 24,10	340,7 ± 17,11	338,7 ± 16,23	338,9 ± 8,749	334,7 ± 9,197	322,5 ± 11,89	270,2 ± 19,62	305,6 ± 29,37
20	988 ± 52,5	997 ± 29,4	986 ± 39,78	1001 ± 48,57	994 ± 36,35	993 ± 37,55	990 ± 50,47	890 ± 56,92	937 ± 63,62
22	1743 ± 95,61	1768 ± 159,6	1834 ± 83,43	1804 ± 147	1817 ± 95,79	1799 ± 65,77	1839 ± 83,51	1239 ± 112,5	1335 ± 97,80
26	4272 ± 144,7	4257 ± 122,7	4250 ± 140,4	4274 ± 123,4	4315 ± 142,5	4330 ± 123,4	4277 ± 148,2	3379 ± 95,87	3877 ± 152
29	4935 ± 159,5	4895 ± 141,1	4926 ± 158,4	4946 ± 178,4	4890 ± 166	4892 ± 136,1	4905 ± 166,7	4333 ± 201,4	4601 ± 174
Cocons / Cocoons	2274	2280	2261	2302	2297	2263	2245	1887	2089
35	± 103,2	± 136,1	± 98,3	± 137,4	± 149,2	± 136	± 125	± 132,5	± 95,22

1A a subi 5 anesthésies et 1B en a subi 10 (1 et 2 par âge larvaire). La première valeur est la moyenne de 10 mesures ; la seconde, l'intervalle de confiance ($p = 0,05$) / 1A and 1B were anaesthetized once and twice respectively at each larval stage. The first value is the average of 10 measures, the second is the standard error ($p = 0.05$).

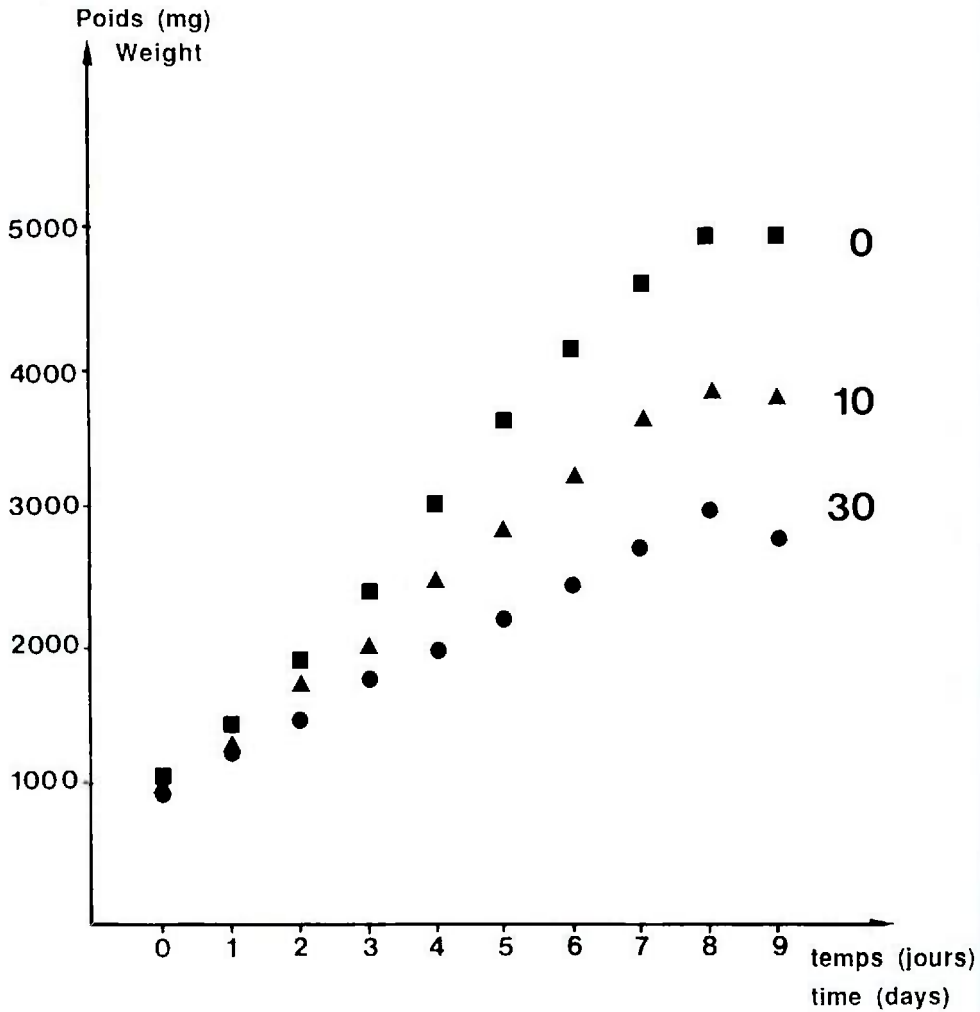


Fig. 1 : Effet de l'anesthésie quotidienne sur le poids larvaire au cours du dernier âge.
(10 et 30 minutes sont les durées de l'anesthésie). Chaque valeur est la moyenne de 10 mesures.

Fig. 1 : Effect of daily anaesthesia on the larval weight during the last instar.
(10 and 30 minutes are the anaesthesia durations). Each value is the average of 10 measures.

Quel que soit le traitement subi par les oeufs, les vers issus de ces oeufs ont tous des courbes de croissance comparables (tableau II). Il n'y a donc pas d'effet différé au niveau de la croissance. Par contre, les larves subissant des anesthésies ont une croissance pondérale retardée et d'autant plus que le nombre d'anesthésies est plus grand. Ce résultat est encore plus marqué lorsque le traitement n'est appliqué qu'au cours du dernier âge mais à une fréquence quotidienne (courbe 1).

D'autre part, si l'allongement de la durée du développement n'est pas très significative (à peine 24 heures) si les animaux confectionnent correctement leur cocon, par contre celui-ci montre une valeur pondérale très inférieure aux témoins (tableau II).

DISCUSSION

Le premier résultat mis en évidence est que les oeufs sont pratiquement insensibles au traitement par le CO₂, les différences obtenues étant très peu significatives. Ceci est en accord avec l'idée que l'oeuf de *Bombyx mori* est un système clos et qu'il est imperméable. Il est alors normal de constater qu'il n'y a pas non plus d'effets différés.

Les anesthésies durant la vie larvaire provoquent un retard de croissance sans entraîner un allongement significatif de la vie larvaire. Il y a donc finalement une réduction de la taille qui se répercute sur la production de soie : formation de cocons plus petits ; il n'a pas été fait de distinction entre nymphe et soie, la pesée du cocon ayant été globale.

Le CO₂, surtout lorsqu'il est appliqué de manière répétée, n'est pas inoffensif sur les chenilles de *Bombyx*. Les effets observés vont dans le même sens que ceux décrits chez d'autres espèces, c'est-à-dire un ralentissement de la croissance et une diminution de la taille (Brooks, 1965 ; Tanaka, 1982 ; Woodring et coll., 1978). On note également une différence de sensibilité au cours du développement. Les périodes de sensibilité peuvent être très variables suivant les espèces ; chez le ver à soie, la période larvaire étant beaucoup plus sensible que la période embryonnaire.

Avec des traitements brefs et répétés, on obtient des résultats comparables à ceux observés avec des doses beaucoup plus faibles mais appliquées de façon permanente (Boulétreau et coll., 1984) ou, indépendamment du CO₂, lorsque les conditions naturelles deviennent mauvaises. Le rôle du CO₂ comme facteur du milieu a rarement été pris en compte chez les insectes alors que de nombreuses espèces vivent, à un stade ou à un autre, dans des milieux où le taux de CO₂ doit être très fort (par exemple, les larves de drosophiles dans les fruits en fermentation).

Appliqué à forte dose et de manière permanente, le CO₂ devient toxique. On sait (Nicolas et Sillans, 1989) qu'il est actuellement utilisé, parfois en synergie avec un insecticide, pour contrôler les populations d'insectes infestant les silos à grains. Bien que le ver à soie ne soit pas une espèce concernée, il est important de savoir que certains stades sont plus sensibles que d'autres.

Finalement, il est évident que l'immobilisation par le CO₂ peut profondément modifier la biologie des insectes et que parfois ce gaz a été utilisé sans suffisamment de précautions. Cependant, chez le ver à soie, des modifications sont observées après un traitement sévère qui doit rarement être nécessaire par l'expérimentation. De plus, le CO₂ présente de nombreux avantages par rapport à d'autres anesthésiques comme l'éther (peu de mortalité, immobilisation plus longue).

REFERENCES

- BOULETREAU M., FOUILLET P., SILLANS D. (1984), Differential sensitivity of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans* to chronic exposure to carbon dioxide during development. *Experientia*, 40, 566-567.
- BROOKS M.A. (1965), The effects of repeated anesthesia on the biology of *Blattella germanica*. *Ent. exp. appl.*, 8, 39-48.
- EDWARDS L.J. (1971), Carbon dioxide anesthesia of the face fly, *Musca autumnalis* : effects of temperature and oxygen on knock down rate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 38A, 509-516.
- NICOLAS G., SILLANS D. (1989), Immediate and latent effects of carbon dioxide on insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 34, 97-116.
- SILLANS D. (1978), Contribution à l'étude des mécanismes et des effets de l'anesthésie chez les insectes. Thèse Doctorat d'Etat Lyon, 148 pp.

- TANAKA A. (1982), Effects of carbon dioxide anaesthesia on the number of instars, larval duration and adult body size of the German cockroach, *Blattella germanica*. J. Insect Physiol., 28, 813-821.
- WOODRING J.P., CLIFFORD C.W., ROE R.M., BECKMAN B.R. (1978), Effects of CO₂ and anoxia on feeding, growth, metabolism, water balance, and blood composition in larval female house crickets, *Acheta domesticus*. J. Insect Physiol., 24, 499-509.

EFFECT OF REPEATED CO₂ ANAESTHESIA ON THE GROWTH OF *BOMBYX MORI* LARVAE

D. SILLANS

Laboratoire de Biométrie, URA CNRS n° 243, Université Claude Bernard, Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

Bombyx mori eggs and larvae were exposed to pure CO₂ repeated anaesthesia (10 minutes each time). There was no effect either immediate or delayed when the eggs were treated (i.e., during the embryonic development). On the contrary substantial growth retardations were recorded when the treatment was applied during the larval development.

Keywords : Carbon dioxide, repeated anaesthesia, growth rate, silkworm.

INTRODUCTION

The immobilization of insects, when necessary, is obtained by means of carbon dioxide. The fact that the effect of carbon dioxide persists even when the oxygen rate is high shows that it is indeed anaesthesia and not the result of anoxia (Edwards, 1971). In addition, the effect is reversible and CO₂ is a well-known anaesthetic in vertebrates. However, although CO₂ is efficient and very easy to use, several authors have reported some harmful effects such as a lower fecundity, growth retardations or an increased mortality (Brooks, 1965 ; Tanaka, 1982 ; Woodring *et al.*, 1978), these effects occurring mostly after repeated anaesthesia.

Our earlier experiments on silkworms had concerned single anaesthesia generally carried out at the late fifth instar (Sillans, 1978). Under such conditions, the effect had seemed quite reversible. It now appeared necessary to determine whether repeated treatments, carried out throughout the larval development, affected the growth of these insects.

MATERIALS AND METHODS

The insects used belonged to the 200 × 300 variety. The eggs were incubated at 24°C. The rearings were performed at 22°C. The eggs from two layings were dispatched into seven batches of 100 eggs each. Each batch was subjected to a varying number of exposures with pure CO₂ for 10 minutes.

Batch 1 was not anaesthetized (control).

Batch 2 was anaesthetized once (day 1 of incubation).

Batch 3 was anaesthetized every five days (days 1, 6 and 11).

Batch 4 was anaesthetized every other day (days 1, 3, 5, 7, 9, 11 and 13).

Batch 5 was anaesthetized every day (days 1 to 14).

Batch 6 was anaesthetized every day during the first week of incubation (days 1 to 7).

Batch 7 was anaesthetized every day during the second week of incubation (days 8 to 14).

Anaesthesia was performed at 10.00 a.m. For each of these batches, the development duration (hatching was recorded daily) and hatching percentage were measured. On the basis of the control

batch, three batches of 20 individuals (1T, 1A, 1B) among the first larvae hatched were constituted. 1A was anaesthetized once during each instar, 1B was anaesthetized twice (viz. respectively 5 and 10 exposures of 10 minutes during the larval stage). For all the other batches 20 individuals were maintained. In every case, 10 among the 20 were weighed regularly (20 were maintained for preventing any risk of mortality or abnormal growth) during all five instars.

Another experiment was carried out with insects issued from a third untreated laying. Anaesthesia was administered every day but only during the last instar (which is the most commonly used in experiments on this species). Three batches were constituted, one being subjected to 10-minute exposures, another to 30-minute exposures. Ten larvae from every batch were weighed daily.

In most of these experiments we chose the 10-minute duration for pure CO₂ anaesthesia, as this particular duration produces the maximum effect, the latter, however, remaining comparable to that observed in mixtures in which the oxygen rate is at least equal to that of atmosphere. For longer exposures in pure CO₂, the effect of anoxia, which we tested in the last experiment, is superposed.

RESULTS

Table I shows a slightly reduced hatching percentage and an increased larval duration when the number of exposures is higher. In fact, there is no significant difference even between the extreme values of each variable and the inverse correlation between the two variables is not significant either.

Whatever the treatment administered to the eggs, all the larvae issued from these eggs have comparable growth curves (table II). There is therefore no delayed effect as regards growth. On the other hand, when the larvae are subjected to anaesthesia, their ponderal growth is all the more delayed as the number of exposures is higher. This result is even more pronounced when the treatment is applied only during the last instar but at daily intervals (fig. 1).

In addition, if the development duration does not increase significantly (less than 24 hours) when the insects spin their cocoons correctly, the cocoon weight is much lower than that of the control (table II).

DISCUSSION

The first result is that the eggs are virtually insensitive to CO₂ treatment as the differences obtained are of little significance. This is in agreement with the idea that the egg of *Bombyx mori* is a closed system and that it is impermeable. It is therefore normal to note that there are no delayed effects.

Anesthesia during the larval period causes a delayed growth without inducing a significant lengthening of the larval period. As a result, there is a decrease in the size, a decrease which affects silk production : formation of smaller cocoons. No distinction was made between pupa and silk, the weight being recorded globally.

CO₂ especially when applied repeatedly is not harmless to *Bombyx* larvae. The effects observed - i.e. a slow growth and a reduced size - are in conformity with those reported in other species (Brooks, 1965 ; Tanaka, 1982 ; Woodring *et al.*, 1978). A difference in the sensitivity is also noted during the development. The sensitivity periods can vary greatly depending on the species. In the silkworm the larval period is much more sensitive than the embryonic period.

With brief and repeated treatments, the results obtained are comparable to those observed with much lower but permanently applied doses (Bouléreau *et al.*, 1984), or, irrespective of CO₂, when natural conditions become unfavourable. The role of CO₂ as an environmental factor has seldom been taken into account in insects, whereas many species live, at one stage or another, in environments where the rate of CO₂ must be very high (for instance, *Drosophila* larvae in fermenting fruit).

Applied in large doses and permanently, CO₂ becomes toxic. It is known (Nicolas and Sillans, 1989) that it is currently used, sometimes in synergy with an insecticide, to control insect populations infesting grain silos. Although the silkworm as a species is not affected, it is important to know that certain stages are more sensitive than others.

Lastly, it is obvious that CO₂ immobilization can deeply modify the biology of insects and that sometimes this gas was used without sufficient precaution. However, in silkworms, modifications

were observed after a severe treatment which is seldom required in experiments. Moreover, CO₂ shows many advantages as compared to other anaesthetics as ether (little mortality, longer immobilization).

HETEROSIS ANALYSIS IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU, P. RAMAMOHANA RAO, V. PREMALATHA,
K. VIJAYARAGHAVAN & S.K. GUPTA

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore
570 008, India.

The data from an experiment in silkworm consisting of 8 crosses and 4 lines have been analysed. The investigation demonstrated that several F₁ hybrids, obtained by crossing the recessive trimoulters and the tetramoulters strain, segregated in trimoulters and tetramoulters, depending upon the type of female parent used for crossing. Quantitative characters showed distinct differences between trimoulters and tetramoulters segregated from the same F₁ hybrid. The degree of heterosis varied considerably for different characters with the maximum heterosis for cocoon shell weight, cocoon weight and thickness of the silk filament. There appeared to be better chances for increasing the yield as well as producing fine variety of silk by exploiting hybrid vigour for cocoon weight, cocoon shell weight and fineness of silk filament. The use of a recessive trimoulters strain for exploitation of heterosis has been discussed.

Keywords : Recessive trimoulters, heterosis analysis, *Bombyx mori* L.

INTRODUCTION

Moulting is an essential process during the larval development in insects (Williams, 1980) and the larval development is greatly influenced by environmental conditions such as temperature, photoperiod and nutrition, humidity, starvation and population density (Russel *et al.*, 1980 ; Morita and Tojo, 1985). In the silkworm, *Bombyx mori*, extra larval moult is induced in larvae reared on a poor nutritional diet at a long day photoperiod (Sumimoto, 1974 ; Takamiya, 1975) and the number of larval moults reduced or increased by the combined effect of temperature, photoperiod and nutrition experienced during embryonic and larval development (Morohoshi, 1957). Nagatomo (1941) first demonstrated the sex-linked phenomenon of the inheritance of moultnism in the silkworm, *Bombyx mori*, which was later confirmed by many workers (Itikawa, 1941 ; Sidhu, 1968 ; Komori and Yoshitake, 1979 ; Singh *et al.*, 1989). Attempts have been made for the utilization of trimoulters in silk production through hybridization (Hirobe, 1956 ; Sidhu and Singhal, 1978 ; Yamamoto *et al.*, 1986). The present study was carried out to elucidate the manifestation of trimoulters and comparison of several quantitative characters between trimoulters and tetramoulters segregated from F₁ hybrids between recessive trimoulters and tetramoulters strains of the silkworm, *Bombyx mori* L.

MATERIALS AND METHODS

A recessive trimoulters strain, obtained in a three way cross involving two bivoltine strains (NB7 and NB18) and one multivoltine strain (MHMP-W), was utilized for the present study. This spontaneous trimoulters strain gives trimoulters of both sexes and the degree of inheritance varies with the season. In the present study, tetramoulters denotes the tetramoulters individuals segregated from the trimoulters line itself. Different parent combinations were made between trimoulters and bivoltines

and between tetramoulters and bivoltines. Two bivoltine strains, viz. NB₁₈ (a Japanese type) and KA (a Chinese type) were used. Data were recorded for fecundity, hatchability, larval span, manifestation of trimoulters, cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell ratio, filament length denier and comparative larval growth in trimoulters and tetramoulters. The heterotic effects over mid parent value and better parent value were determined for both trimoulters and tetramoulters F₁ hybrids by using the following formulae :

$$MP = \frac{F_1 - MPV}{MPV} \times 100$$

$$BP = \frac{F_1 - BPV}{BPV} \times 100$$

RESULTS AND DISCUSSION

Rearing performance of 4 lines, viz. trimoulters, tetramoulters, NB₁₈ and KA and their tetramoulters F₁ hybrids have been presented in Table I. The maximum number of trimoulters (33.7%) was segregated in a cross involving females of NB₁₈ and tetramoulters males followed by KA × trimoulters (29.6%) and NB₁₈ × trimoulters (22.3%). It is interesting to note that no trimoulters appeared in reciprocal crosses. According to Morohoshi (1957) the non appearance of trimoulters in a cross with a trimoulting line is due to the difference (+Lm³ or +Lm^c) of sex-linked maturing genes. There are at least four types of the maturing genes +Lm¹ > +Lm² > +Lm³ > Lm^c. The appearance of trimoulters in F₁ hybrid depends upon the relative strength of the functions of these genes.

The mean performance of trimoulters hybrids and their heterotic values have been given in Table II. A negative heterosis was observed in crosses between bivoltine × trimoulters or bivoltine × tetramoulters. However, a positive heterosis over mid parent value for fineness of silk filament was observed in NB₁₈ × trimoulters (Table II). The negative heterosis might be due to the superiority of bivoltine strains to recessive trimoulters as a result of overdominance. Hirobe (1956) has observed overdominance in raw silk percentage of cocoons, weight of cocoons and weight of the cocoon shell in a cross of recessive trimoulters and a Japanese race.

The comparative larval growth per day in trimoulters and trimoulters hybrid in 4th age has been shown in Fig. 1, and comparative larval growth in tetramoulters and tetramoulters hybrid has been shown in Fig. 2. It was found that the larval growth in trimoulters was comparatively faster as compared to hybrid larvae. Kiuchi *et al.* (1986) have observed a faster growth rate in trimoulters induced by the administration of imidazole compound SSP-11, an anti-juvenile hormone, in the early 3rd and 4th instars. The larval span of trimoulters was 4 to 5 days shorter than that of tetramoulters, whereas Yamamoto *et al.* (1986) have found a 3.3 day difference of larval span between trimoulters and tetramoulters segregated from the F₁ hybrid between dominant trimoulters and tetramoulters strain in the silkworm. According to Morohoshi (1957), the length of each instar is determined by the balance of growth promoting and inhibitory hormones.

The heterotic effects in several characters of tetramoulters segregated from different crosses have been presented in Table III. The degree of heterosis varied for different characters with maximum heterosis for cocoon shell weight, cocoon weight and fineness of the silk filament. Heterotic value for fecundity in the cross KA × trimoulters was maximum (41.66), followed by NB₁₈ × trimoulters (21.86) and KA × tetramoulters (21.30). Heterotic effect for hatchability was found good in all the crosses studied. The quantitative characters showed distinct heterotic effects between trimoulters and tetramoulters (Table I, Table II). Maximum heterosis over mid parent in cocoon weight (49.62) and cocoon shell weight (53.03) was observed in trimoulters × KA, followed by KA × trimoulters, tetramoulters × KA and trimoulters × NB₁₈ (Table III). Similarly, maximum heterotic effect for cocoon shell ratio was found in NB₁₈ × tetramoulters (11.76) followed by NB₁₈ × trimoulters (10.52) and KA × tetramoulters (8.57). Kiuchi and Akai (1985) have demonstrated increased cocoon shell ratio in the silkworm following treatment with an anti-juvenile hormone.

Table I. Mean values of different silkworm strains and their hybrids.

Tableau I. Valeurs moyennes chez différentes souches de vers à soie et leurs hybrides.

Sl. no.	Race / Combination	Fecundity	Hatching %	Larval span D:H	% of trimoulters	Single cocoon weight (g)	Single shell weight (g)	Shell ratio (%)	Filament length (m)	Denier
N° de série	Race / Croisement	Fécondité	Éclosion (%)	Durée larvaire J:H	% de trimuants	Poids d'un cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Longueur du fil (m)	Denier
1	Trimoultier / Trimuant	281	86.1	17:01	16.2	0.727	0.110	15.1	614	1.3
2	Tetramoultier Tétramuant	484	92.8	19:21	6.3	1.084	0.161	14.8	685	1.6
3	NB ₁₈	534	96.4	22:22	0.0	1.754	0.338	19.2	909	2.6
4	KA	464	98.9	21:07	0.0	1.417	0.287	20.2	853	2.3
5	NB ₁₈ × Trimoultier NB ₁₈ × Trimuant	496	97.5	21:07	22.3	1.490	0.283	18.9	733	2.6
6	Trimoultier × NB ₁₈ Trimuant × NB ₁₈	364	91.6	22:02	0.0	1.555	0.288	18.5	901	2.1
7	NB ₁₈ × Tetramoultier NB ₁₈ × Tétramuant	463	97.8	21:08	33.7	1.470	0.280	19.0	969	2.5
8	Tetramoultier × NB ₁₈ Tétramuant × NB ₁₈	497	97.8	22:02	0.0	1.643	0.304	18.5	865	2.3
9	KA × Trimoultier KA × Trimuant	527	95.5	21:00	29.6	1.491	0.275	18.4	804	2.6
10	Trimoultier × KA Trimuant × KA	329	94.5	22:02	0.0	1.604	0.303	18.8	873	2.5
11	KA × Tetramoultier KA × Tétramuant	575	98.0	20:21	19.5	1.399	0.266	19.0	750	2.3
12	Tetramoultier × KA Tétramuant × KA	470	97.9	20:09	0.0	1.583	0.288	18.1	846	2.2

Table II. Mean values of trimoulters segregated in different crosses. MPV and BPV denote heterosis values over mid parent and better parent values respectively.

Tableau II. Valeurs moyennes des trimuants ségrégués dans différents croisements. Les sigles MPV et BPV indiquent les valeurs respectives de l'hétérosis sur le parent moyen et sur le meilleur parent.

Sl. no. Numéro de série	Race / Combination Race / croisement	Larval span D:H Durée larvaire J:H	Single cocoon weight (g) Poids d'un cocon (g)	Single shell weight (g) Poids de la coque (g)	Shell ratio (%) Richesse soyeuse (%)	Filament length (m) Longueur du fil (m)	Denier Denier
1	NB ₁₈ × Trimoulter NB ₁₈ × Trimuant	17:07	1.053	0.174	16.5	675	2.0
		MPV - 13.45	- 15.08	- 22.32	- 3.50	- 11.30	+ 5.26
		BPV - 24.54	- 39.96	- 48.52	- 13.84	- 25.74	- 23.07
2	NB ₁₈ × Tetramoulter NB ₁₈ × Tétramuant	17:05	1.199	0.182	15.1	773	1.8
		MPV - 19.57	- 15.50	- 26.90	- 11.17	- 3.01	- 14.28
		BPV - 24.90	- 31.64	- 46.15	- 21.35	- 14.96	- 30.76
3	KA × Trimoulter KA × Trimuant	17:12	0.896	0.137	15.2	588	1.7
		MPV - 8.69	- 16.41	- 30.80	- 13.63	- 19.78	- 5.55
		BPV - 17.80	- 36.76	- 52.26	- 24.75	- 31.06	- 26.08
4	KA × Tetramoulter KA × Tétramuant	16:19	0.918	0.125	13.6	619	1.8
		MPV - 18.42	- 26.56	- 44.19	- 22.28	- 19.50	- 5.26
		BPV - 21.13	- 35.21	- 58.18	- 32.67	- 27.43	- 21.73

Table III. Heterosis values of tetramoulters segregated in different crosses of the silkworm, *Bombyx mori*. MPV and BPV denote mid parent and better parent values respectively.

Tableau III. Valeurs de l'hétérosis de trimuants ségrégués dans différents croisements de ver à soie, *Bombyx mori*. Les sigles MPV et BPV donnent les valeurs respectives par rapport au parent moyen et au meilleur parent.

Sl. no. N° de série	Combination Croisement	Fecundity Fécondité	Hatching (%) Éclosion (%)	Larval span Durée larvaire	Cocoon weight Poids du cocon	Shell weight Poids de la coque	Shell ratio Richesse soyeuse	Filament length Longueur du filament	Denier Denier
1	NB ₁₈ × Trimoulter	MPV + 21.86	+ 6.67	+ 6.68	+ 20.16	+ 26.33	+ 10.52	- 3.67	+ 36.84
	NB ₁₈ × Trimuant	BPV - 7.11	+ 0.82	- 7.09	- 15.05	- 16.27	- 1.56	- 19.36	0.00
2	Trimoulter × NB ₁₈	MPV - 10.56	+ 0.21	- 10.22	+ 25.40	+ 28.57	+ 8.18	+ 18.39	+ 10.52
	Trimuant × NB ₁₈	BPV - 31.83	- 5.27	- 21.81	- 11.34	- 14.79	- 3.64	- 0.88	- 19.23
3	NB ₁₈ × Tetramoulter	MPV - 9.03	+ 3.27	- 0.19	+ 3.59	+ 12.44	+ 11.76	+ 21.58	+ 19.04
	NB ₁₈ × Tétramuant	BPV - 13.29	+ 1.13	- 6.90	- 16.19	- 17.15	- 1.04	+ 6.60	- 3.84
4	Tetramoulter × NB ₁₈	MPV - 2.35	+ 3.27	+ 3.20	+ 15.78	+ 22.08	+ 8.82	+ 8.53	+ 9.52
	Tétramuant × NB ₁₈	BPV - 6.92	+ 1.13	- 3.63	- 6.32	- 10.05	- 3.64	- 4.84	- 11.53
5	KA × Trimoulter	MPV + 41.66	+ 3.24	+ 9.56	+ 39.08	+ 38.88	+ 4.54	+ 9.68	+ 44.44
	KA × Trimuant	BPV + 13.57	- 3.43	- 1.36	+ 5.22	- 4.17	- 8.91	- 5.74	+ 13.04
6	Trimoulter × KA	MPV - 11.55	+ 2.16	+ 15.21	+ 49.62	+ 53.03	+ 6.81	+ 19.09	+ 38.88
	Trimuant × KA	BPV - 29.09	- 4.44	+ 3.71	+ 13.19	+ 5.57	- 6.93	+ 2.34	+ 8.69
7	KA × Tetramoulter	MPV + 21.30	+ 2.29	+ 1.41	+ 11.92	+ 18.75	+ 8.57	- 2.47	+ 21.05
	KA × Tétramuant	BPV + 23.92	- 0.91	- 1.95	- 1.27	- 7.31	- 5.94	- 12.07	0.00
8	Tetramoulter × KA	MPV - 0.84	+ 2.19	+ 3.84	+ 26.64	+ 28.57	+ 3.42	+ 10.01	+ 15.78
	Tétramuant × KA	BPV + 1.29	- 1.01	+ 0.39	+ 11.71	+ 0.34	- 10.39	- 0.82	- 4.34

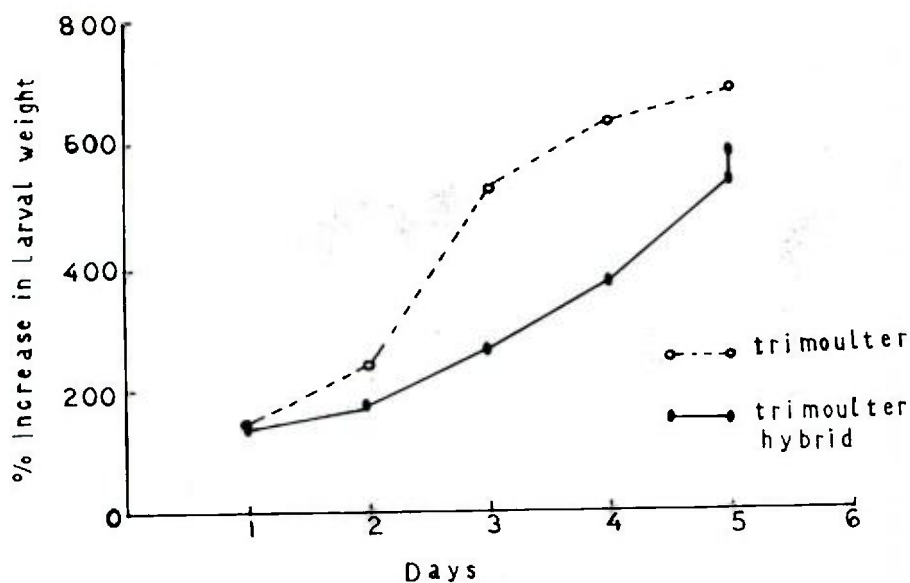


Fig. 1 : Graph showing the larval growth in the 4th instar in the trimoulter and its hybrids.

Fig. 1 : Graphique montrant la croissance larvaire au quatrième âge chez le trimuant et ses hybrides.

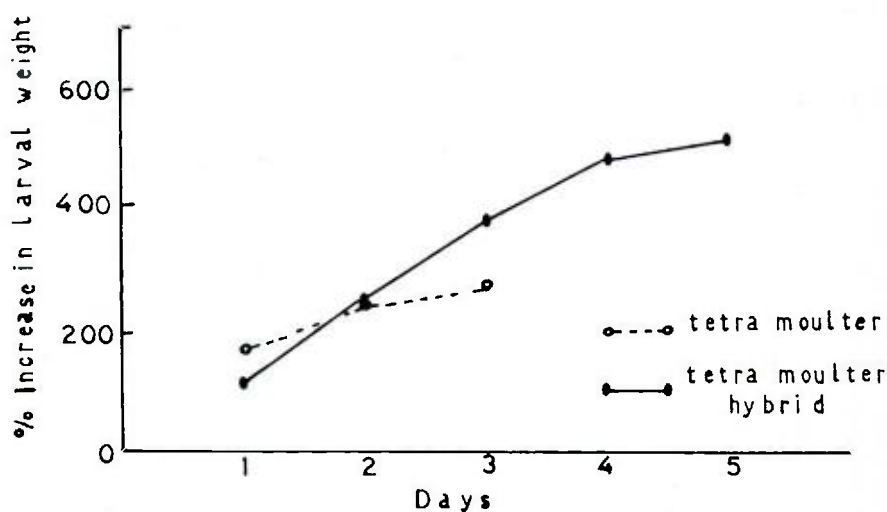


Fig. 2 : Graph showing the larval growth in the 5th instar in the tetramoulter and its hybrids.

Fig. 2 : Graphique montrant la croissance larvaire au cinquième âge chez le tétramuant et ses hybrides.

The size of the cocoon filament recorded a maximum heterotic effect in denier as noticed in KA $\times$ trimoulters (44.44), followed by trimoulters $\times$ KA (38.88) and NB₁₈ $\times$ trimoulters (36.84) respectively (Table III). Heterotic effect for filament length was maximum in NB₁₈ $\times$ tetramoulters (21.58), followed by trimoulters $\times$ KA (19.09) and trimoulters $\times$ NB₁₈ (18.39). Recently, some chemicals with an anti-juvenile hormone activity have been found useful for producing fine cocoon filament in silkworm (Akai *et al.*, 1984 ; Kanda *et al.*, 1985). The recessive trimoulters strain can be successfully utilized not only for exploitation of heterosis but also for the production of a fine variety of mulberry silk. Kubota *et al.* (1986) have demonstrated increased silk production and induction of trimoulters from tetramoulters by repeated treatments with anti-juvenile hormone. The results clearly indicate the possibilities of utilizing the trimoulters strain in exploiting the heterosis and the same can also be useful for the production of fine quality of silk filament.

REFERENCES

- AKAI H., KIMURA K., KIUCHI M., SHIBUKAWA A. (1984), Effect of anti-juvenoid treatment on the cocon and cocoon filaments in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 53, 545-546.
- HIROBE T. (1956), An analysis of heterosis, made with the silkworm. Proc. Internat. Genet. Symp., 357-361.
- ITIKAWA N. (1941), On facultatively occurred trimoulters in the silkworm. J. Seric. Sci. Jpn., 12, 17-23.
- KANDA T., KIGUCHI J., MURAYAMA A., AOKI T., TAKAHASHI T., KANDA W., CHENG Y., KUWANO E., ETO M. (1985), Induction of precocious trimoulting silkworms by anti-juvenile hormone and the physical properties of the cocoon filament and fabrics. Bull. Seric. Ext. Sin., 30, 123-149.
- KIUCHI M., AKAI H. (1985), Increase of cocoon shell weight and cocoon shell ratio by anti-JH administration during the fifth larval instar in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 54, 527-528.
- KIUCHI M., ABE S., AKAI H. (1986), Growth and food efficiency in precocious trimoulters silkworms induced by the administration of an anti-JH compound. J. Seric. Sci. Jpn., 55, 246-251.
- KOMORI S., YOSHITAKE N. (1979), Interaction of a recessive trimoulting gene and a sex-linked late maturing gene on the manifestation of moulting in the silkworm, *Bombyx mori*. I. On the manifestation of moulting in the recessive trimoulting strain with a sex-linked late maturing gene Lm. J. Seric. Sci. Jpn., 48, 268-272.
- KUBOTA T., KIUCHI M., AKAI H. (1986), Induction of trimoulters and increase of silk production by repeated treatments with anti-juvenile hormone. J. Seric. Sci. Jpn., 56, 527-528.
- MORITA M., TOJO S. (1985), Relationship between starvation and supernumerary ecdysis and recognition of the penultimate larval instars in the common cut worm, *Spodoptera litura*. J. Insect Physiol., 31, 307-313.
- MOROHOSHI S. (1957), In Physiogenetical studies on the moulting and voltinism in *Bombyx mori*. Japan society for the promotion of science. Uno Park, Tokyo, Japan., p. 87
- NAGATOMO T. (1941), Sex-linked inheritance of trimoulting in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 12, 171-183.
- RUSSEL V.M., SCHUTTEN G.G.M., ROORDA F.A. (1980), Laboratory observations on the development of the rice moth, *Corcyra cephalonia* (Lepidoptera : Galleriinae) on millet and sorghum at 28°C and relative humidity. Z. Ang. Ent., 89, 488-498.
- SIDHU N.S. (1968), Sex-linked trimoulters in *Bombyx mori*. Indian J. Sericult., 1, 83-84.
- SIDHU N.S., SINGHAL R.A. (1978), A study on the use of trimoulters (M³) strain for silk production in South India. Indian J. Hered., 9, 13-18.
- SINGH R., NAGARAJU J., VIJAYARAGHAVAN K. (1989), Studies on the inheritance of trimoulters in the silkworm, *Bombyx mori*. Current Sci., 58, 324-326.
- SUMIMOTO K. (1974), Studies on the developmental physiology of the silkworm, *Bombyx mori*, in environmental control. II. Effect of larval photoperiod on the induction of extra larval ecdysis under nutritional conditions of artificial diet. Environ. Control Biol., 12, 117-124.

- TAKAMIYA K. (1975), Studies on the larval growth of the silkworm, *Bombyx mori* L., reared on an artificial diet under different temperature and photoperiod condition. VI. Effect of illumination on the moultnism and voltinism of different silkworm races. J. Seric. Sci. Jpn., 44, 395-399.
- WILLIAMS C.M. (1980), *In* Insect biology in the future 'VBW8' (ed.) M. Locke and D.S. Smith, Academic Press, New York, 369-383.
- YAMAMOTO T., ENOKIJIMA M., KAMIJYOU I., FUKASAWA M., MARUYAMA M., NAKAYAMA K., MIMURA Y. (1986), Comparison of several quantitative characters between trimoulters and tetramoulters segregated from the F1 hybrids between the dominant trimoulter and the tetramoulter strain in the silkworm. J. Seric. Sci. Jpn., 56, 467-471.

ANALYSE DE L'HETEROSIS CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU, P. RAMAMOHANA RAO, V. PREMALATHA,
K. VIJAYARAGHAVAN & S.K. GUPTA

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

On a analysé les données d'une expérience comprenant 8 croisements et 4 lignées chez le ver à soie. Cette étude démontre que plusieurs hybrides F₁, obtenus par croisement d'une souche récessive trimuante avec une souche tétramuante, sont ségrégués en trimuants et tétramuants en fonction du type de parent femelle utilisé pour le croisement. Les caractères quantitatifs montrent qu'il existe des différences marquées entre les trimuants et les tétramuants obtenus dans le même croisement F₁. Le degré d'hétérosis varie considérablement suivant les caractères avec une hétérosis maximum pour le poids de la coque, le poids du cocon et l'épaisseur de la bave. Il apparaît que la sélection d'hybrides par le poids du cocon, le poids de la coque et la finesse de la bave donne de meilleures chances d'obtenir un rendement et de produire une variété de soie supérieure. L'utilisation d'une souche trimuante récessive en vue de l'exploitation de l'hétérosis est discutée.

INTRODUCTION

La mue est un processus essentiel au cours du développement larvaire chez les insectes (Williams, 1980) et le développement larvaire est largement influencé par les conditions écologiques telles que la température, la photopériode et la nutrition, l'humidité, la nourriture et la densité de population (Russel et coll., 1980 ; Morita et Tojo, 1985). Chez le ver à soie *Bombyx mori*, une mue larvaire supplémentaire est induite chez les larves élevées avec un aliment à faible valeur nutritive et une photopériode à longue durée de lumière (Sumimoto, 1974 ; Takamiya, 1975) et le nombre total de mues peut diminuer ou augmenter par les effets conjoints de la température, de la photopériode et de la nutrition subis au cours du développement (Morohoshi, 1957). Nagatomo (1941) a le premier démontré que, chez le ver à soie *Bombyx mori*, l'héritabilité du nombre de mues est liée au sexe, ce qui fut confirmé par la suite par de nombreux chercheurs (Itikawa, 1941 ; Sidhu, 1968 ; Komeri et Yoshitake, 1979 ; Singh et coll., 1989). On a essayé d'utiliser, par hybridation, des trimuants pour la production de soie (Hirobe, 1956 ; Sidhu et Singhal, 1978 ; Yamamoto et coll., 1986). La présente étude a été entreprise afin d'élucider l'apparition des trimuants et de comparer plusieurs caractères quantitatifs entre ces trimuants et les tétramuants dans la génération F₁ d'hybrides entre des souches trimuantes récessives et des souches tétramuantes du ver à soie *Bombyx mori*.

MATERIELS ET METHODES

Pour cette étude, on a utilisé une souche trimuante récessive provenant d'un croisement à trois voies entre deux souches bivoltines (NB₇ et NB₁₈) et une souche polyvoltine (MHMP-W). Cette souche trimuante spontanée donne des trimuants des deux sexes et le degré d'héritabilité varie selon la saison. Dans cette étude, tétramuant désigne les individus tétramuants ségrégués de la lignée trimuante elle-même. Différentes combinaisons parentales sont faites entre les trimuants et les bivoltins et entre les tétramuants et les bivoltins. Deux souches bivoltines, à savoir NB₁₈ (type

japonais) et KA (type chinois) sont utilisées. Les données sont recueillies pour la fécondité, le taux d'éclosion, la durée larvaire, la présence de trimuants, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave, le denier et la croissance comparée des trimuants et des tétramuants. L'hétérosis par rapport au parent moyen (MP) et au meilleur parent (BP) sont mesurés chez les hybrides F₁ trimuants et les tétramuants à partir des formules suivantes :

$$MP = \frac{F_1 - MPV}{MPV} \times 100$$

$$BP = \frac{F_1 - BPV}{BPV} \times 100$$

RESULTATS ET DISCUSSION

Les performances des quatres lignées, à savoir : trimuante, tétramuante, NB₁₈ et KA et leurs hybrides F₁ tétramuants, sont présentées dans le tableau I. Le nombre maximum de trimuants (33,7 %) est obtenu à partir d'un croisement de femelles NB₁₈ et de mâles tétramuants suivi de KA × trimuants (29,6 %) et NB₁₈ × trimuants (22,3 %). Il est intéressant de noter qu'aucun trimuant n'apparaît dans les croisements réciproques. D'après Moroshoshi (1957), l'absence de trimuants dans un croisement comportant une lignée trimuante est due à la différence (+Lm³ ou +Lm²) de gènes de maturation liés au sexe. Il existe au moins quatre types de gènes de maturation : +Lm¹ > +Lm² > +Lm³ > +Lm^e. L'apparition de trimuants chez les hybrides F₁ dépend de la force relative de ces gènes.

La performance moyenne des hybrides trimuants et leur valeur d'hétérosis sont données dans le tableau II. On observe une hétérosis négative dans les croisements entre bivoltins × trimuants ou bivoltins × tétramuants. Cependant, on observe une hétérosis positive sur la valeur des parents moyens pour la finesse de la bave chez NB₁₈ × trimuants (tableau II). Une hétérosis négative peut être due à la supériorité des souches bivoltines sur la souche trimuante récessive résultant de la surdominance. Hirobe (1956) a constaté une surdominance pour le pourcentage de soie grège du cocon, le poids du cocon et le poids de la coque dans un croisement de trimuants récessifs avec une race japonaise. La croissance larvaire comparée journalière entre le trimuant et l'hybride trimuant au 4^{ème} âge est présentée sur la figure 1, et la croissance larvaire comparée entre l'hybride tétramuant et le tétramuant sur la figure 2. On observe que la croissance larvaire chez les trimuants est comparativement plus rapide que chez les larves hybrides. Cependant, dans le cas de l'hybride trimuant, les larves croissent plus vite le tétramuant. Kiuchi et coll. (1986) ont observé un taux de croissance plus rapide chez les trimuants induits par l'administration d'un composé d'imidazole SPP-11, une anti-hormone juvénile, au début du 3^{ème} et du 4^{ème} âge. La durée larvaire des trimuants est de 4 à 5 jours plus courte que celle des tétramuants alors que Yamamoto et coll. (1986) ont constaté une différence de 3,3 jours dans la durée larvaire entre les trimuants et les tétramuants issus d'un hybride F₁ entre une souche tétramuante et une souche trimuante dominante. Selon Morohoshi (1957), la longueur de chaque âge est déterminée par l'équilibre entre les hormones promotrices et les hormones inhibitrices de croissance.

Les effets hétérotiques pour plusieurs caractères de tétramuants issus de différents croisements sont présentés dans le tableau III. Le degré d'hétérosis varie selon les caractères avec une hétérosis maximum pour le poids de la coque, le poids du cocon et la finesse de la bave. Pour la fécondité, le croisement KA × trimuant donne une hétérosis maximum (41,66), suivi de NB₁₈ × trimuant (21,86) et KA × tétramuant (21,30). On observe que l'effet de l'hétérosis pour le taux d'éclosion est positif chez tous les croisements étudiés. Les caractères quantitatifs montrent des effets de l'hétérosis distincts entre les trimuants et les tétramuants (tableau I, tableau II). On observe une hétérosis maximum par rapport aux parents moyens pour le poids du cocon (49,62) et le poids de la coque (53,03) avec le croisement trimuant × KA, suivi du croisement KA × trimuant, puis de tétramuant × KA et de trimuant × NB₁₈ (tableau III). De même, on observe un effet maximum de l'hétérosis pour la richesse soyeuse avec le croisement NB₁₈ × tétramuant (11,76) suivi de

NB₁₈ × trimuant (10,52) et KA × tétramuant (8,57). Kinchi et Akai (1985) ont démontré que la richesse soyeuse augmente chez le ver à soie après traitement avec une anti-hormone juvénile.

La taille du filament enregistre un effet maximum de l'hétérosis, comme on peut le noter pour le croisement KA × trimuant (44,44), suivi du croisement trimuant × KA (38,88) et de NB₁₈ × trimuant (36,84) (tableau III). L'effet de l'hétérosis pour la longueur de la bave est maximum avec le croisement NB₁₈ × tétramuant (21,58), suivi de trimuant × KA (19,09) et trimuant × NB₁₈ (18,39). Récemment, on a découvert que certains produits chimiques ayant une activité hormonale anti-juvénile s'avèrent utiles dans la production d'une bave de cocon fine chez le ver à soie (Akai et coll., 1984 ; Kanda et coll., 1985). La souche trimuante récessive permet non seulement d'exploiter l'hétérosis mais aussi de produire une variété de soie supérieure. Kubota et coll. (1986) ont démontré que la production de soie augmente et que des trimuants peuvent être induits à partir de tétramuants avec des traitements répétés à l'anti-hormone juvénile. Ces résultats indiquent clairement les possibilités d'utilisation de la souche trimuante afin d'exploiter l'hétérosis, celle-ci pouvant également se révéler utile pour la production d'une qualité fine de bave.

SELECTION FOR RESISTANCE TO A PATHOGENIC BACTERIUM IN LABORATORY POPULATIONS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

B.D. SINGH, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA & M. BAIG

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

A healthy population of the NB7 race of the silkworm, Bombyx mori, was fed with a dose of pathogenic cocci isolated from a diseased silkworm sample collected from field. The survivors of the first generations were again induced with the same dosage of bacterial inoculum in the second and third generation respectively. The incidence of the flacherie was recorded in each generation. Observations showed a gradual development of resistance with a consecutive decrease in the incidence of flacherie (54.625 %, 37.00 % and 32.167 % in the first, second and third generations respectively) which led to 41.11 % attainment of resistance till the 3rd generation. No significant changes were observed in cocoon characters.

Keywords : *Bombyx mori* L., resistance, pathogenic bacteria, survivors, generations, flacherie.

INTRODUCTION

The silkworm, *Bombyx mori* L., is one of the most susceptible insects to bacterial infections, leading to heavy loss of cocoon crop due to flacherie. Our earlier studies on the survey of silkworm diseases in Karnataka (India) has revealed 57.22 % infection by bacteria alone of the total infection recorded (Samson *et al.*, 1989). Many workers have attempted to develop resistance against bacterial infections in insects through artificial induction of disease and subsequent selection of healthy survivors of the population (Goldman *et al.*, 1986). Newman and Feng (1982) studied the susceptibility and resistance of the rock crab, *Cancer irroratus*, to natural and experimental bacterial infections. A resistant silkworm strain to virus induction was also obtained by means of cold treatment by selection through 13 generations (Aizawa *et al.*, 1961). Watanabe (1967) selected uninfected survivors from virus fed larvae of a susceptible strain for eight generations and observed that a resistance to CPV developed.

Only few attempts have so far been made in India to select resistant survivors in silkworm populations after artificial bacterial exposure. Hence, it was thought worthwhile to initiate studies on the induction of resistance in selected survivors after orally feeding with a dose of pathogenic cocci isolated from flacherie affected larval samples.

MATERIALS AND METHODS

A strain of pathogenic cocci was isolated from flacherie-diseased larvae which were showing shrinkage of the body, softness of the skin, flaccid condition and retarded growth with a light brown coloration collected from the field and cultured in nutrient agar media in laboratory as per the standard methods. The bacterium was maintained by subculturing it every week and was microscopically verified for its purity. A popular bivoltine pure race, NB7, of silkworm procured from the bivoltine breeding laboratory of C.S.R. & T.I. (Mysore) was reared up to the third moult and before resumption

Table I. Effect of pathogenic bacteria on the larval and cocoon characters of the silkworm.

Tableau I. Effet des bactéries pathogènes sur les caractères de la larve et du cocon du ver à soie.

Sl. no.	Generation		Weight of 10 larvae (g)	E.R.R. (%)	Single cocoon weight (g)	Single shell weight (g)	Silk ratio (%)
Numéro de série	Génération		Poids de 10 larves (g)	Taux effectif d'élevage (%)	Poids du cocon individuel (g)	Poids de la coque individuelle (g)	Richesse soyeuse (%)
1	1st generation 1ère génération	Control	49.750	81.000	1.807	0.387	21.435
		Témoin	± 1.708	± 1.826	± 0.028	± 0.015	± 0.532
		Treatment	48.500	**29.625	1.770	0.390	22.042
		Lot traité	± 2.380	± 7.761	± 0.600	± 0.012	± 0.650
2	2nd generation 2ème génération	Control	40.033	73.833	1.633	0.347	21.223
		Témoin	± 0.058	± 3.819	± 0.150	± 0.012	± 0.521
		Treatment	**35.967	**53.333	1.560	0.347	22.237
		Lot traité	± 1.332	± 6.028	± 0.105	± 0.021	± 0.552
3	3rd generation 3ème génération	Control	35.000	80.333	1.547	0.329	21.300
		Témoin	± 1.000	± 7.506	± 0.080	± 0.014	± 0.288
		Treatment	**31.467	*60.500	1.537	0.307	**19.627
		Lot traité	± 1.172	± 8.047	± 0.067	± 0.010	± 0.276

** Values are significant at 1 % level / Les valeurs sont significatives au seuil de 1 %.

* Values are significant at 5 % level / Les valeurs sont significatives au seuil de 5 %.

The remaining values are not significant / Les autres valeurs ne sont pas significatives.

of the first feed, a dose of the above strain of bacteria (3.3×10^5 bacteria/ml) was smeared on the mulberry leaf and fed to silkworms. Two hundred larvae were kept in each replication, three replications for treatment (with bacterial induction) and three for control (without induction) were maintained. The silkworms were reared following the standard methods of silkworm rearing (Krishnaswamy *et al.*, 1973).

The observations on the bacterial infection pertaining to specific symptoms of the bacterial flacherie mentioned above were recorded every day, the surviving larvae were allowed to form cocoons and layings were prepared. The layings thus received were again reared and after the third moult were subjected to a similar dose of pathogenic cocci and observations were collected on larval characters, cocoon characters and per cent incidence of bacterial flacherie in the second generation. The same was repeated in the third generation and observations were recorded and analysed statistically for level of significance. Before giving the inoculation the pathogenicity of bacteria was tested on the sample larvae and the similarity in pathogenicity was ensured at each time.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on larval and cocoon characters in bacterial treated batches and control are presented in table I and the incidence of flacherie and other diseases in percentage is presented in table II.

A slight decrease in the larval weight was noticed in the bacterial treatment batches when compared with the control in the second and third generations. No statistically significant changes were recorded in the single cocoon weight and single shell weight in all the three generations. However, a significant reduction in shell percentage was observed in the third generation in treatment batches whereas in the first two generations the difference was not significant.

A successive decrease in the bacterial flacherie was observed from the first to the third generation. In the first generation the per cent incidence of flacherie was 54.625 whereas in control, the incidence was 12.75 %. The difference of 41.875 % incidence of flacherie was attributed to the artificial induction of disease. Survivors of the first generation after exposure to the bacterial pathogen of the same dose showed a significant reduction in the bacterial flacherie incidence, i.e., from 54.625 % to 37.00 % and again survivors of the second generation after exposure to the bacterial pathogen of the same order resulted in 32.167 % incidence in the third generation. There has been no major changes in the incidence level of disease in the case of the control batches in the successive generations.

The results clearly show that there is a gradual decrease in susceptibility, thereby consecutive development of resistance is observed in the survivors of each generation. By the third generation there has been a 41.11 attainment response towards resistance, which is quite encouraging. The results of this study are further confirmed by various workers. Georghiou *et al.* (1983) succeeded in obtaining a two-fold increase in resistance to *B. thuringiensis israelensis* after 32 generations with *Culex quinquefasciatus* at LC 95 selection pressure. Wilson and Burns (1968) obtained a 6-fold resistance in laboratory population of *M. domestica* against *B. thuringiensis* exotoxin after 25 generations. Mogaughey (1985) obtained a 100-fold resistance in *Plodia interpunctella* against *B. thuringiensis* after 15 generations. Goldman *et al.* (1986) studied on one laboratory and two wild populations of yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*, in an attempt to select artificially for resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and found a statistically significant shift (two-fold increase) in response after 14 generations.

The data obtained in this study are consistent with the findings of the above mentioned authors. However, the present study has opened new avenues for further detailed studies in this direction.

Table II. Effect of pathogenic bacteria on the incidence of flacherie and other diseases of the silkworm.

Tableau II. Effet des bactéries pathogènes sur l'incidence de la flacherie et d'autres maladies du ver à soie.

Sl. no. Numéro de série	Generation Génération		Flacherie (%) Flacherie (%)	Other diseases (%) Autres maladies (%)
1	1st generation 1ère génération	Control Témoin	12.750 ± 2.217	6.250 ± 1.258
		Treatment Lot traité	**54.625 ± 7.111	**15.750 ± 1.708
2	2nd generation 2ème génération	Control Témoin	12.500 ± 2.500	13.667 ± 1.443
		Treatment Lot traité	**37.000 ± 5.074	**9.667 ± 1.756
3	3rd generation 3ème génération	Control Témoin	10.500 ± 2.291	9.167 ± 5.299
		Treatment Lot traité	**32.167 ± 5.008	7.33 ± 4.072

** Values are significant at 1 % level / Les valeurs sont significatives au seuil de 1 %.

The remaining values are not significant / Les autres valeurs ne sont pas significatives.

REFERENCES

- AIZAWA K., FURUTA Y., NAKAMURA (1961), Selection of a resistance strain to virus induction in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Jpn., 30, 405-412.
- GEORGHIOU G.P., BAKER J., AL-KHATIB Z., MELLON R., MURRY C., TRAN H., VASQUEZ M., PELSUE F., HAZELRIGG J. (1983), Insecticide resistance in mosquitoes : Research on new chemicals and techniques for management. In Mosquito control research. Annual Report, University of California.
- GOLDMAN I.F., ARNOLD J., CARLTON B. (1986), Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito, *Aedes aegypti*. J. Invertebr. Pathol., 47, 317-324.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARA S. (1973), Sericulture manual, 2. Silkworm rearing. FAO Agricult. Services Bull., Rome, 15, 1-128.
- MOGAUGHEY W.H. (1985), Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. Science (Washington D.C.), 229, 193-195.
- NEWMAN M.C., FENG S.Y. (1982), Susceptibility and resistance of the rock crab, *Cancer irroratus*, to natural and experimental bacterial infection. J. Invertebr. Pathol., 40, 75-88.

SAMSON M.V., BAIG M., SHARMA S.D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SASIDHARAN T.O., JOLLY M.S. (1989), Survey on the incidence of silkworm diseases in Karnataka, India. Indian J. Seric. (in press).

WATANABE H. (1967), Development of resistance in the silkworm, *Bombyx mori*, to per oral infection of a cytoplasmic polyhedrosis virus. J. Invertebr. Pathol., 9, 474-479.

WILSON B.H., BURNS E.C. (1968), Induction of resistance to *Bacillus thuringiensis* in a laboratory strain of houseflies. J. Econ. Entomol., 61, 1747-1748.

SELECTION DE VERS A SOIE *BOMBYX MORI* RESISTANTS A UNE BACTERIE PATHOGENE DANS DES POPULATIONS MAINTENUES EN LABORATOIRE

B.D. SINGH, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA & M. BAIG

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura,
Mysore - 570 008, Inde.

Une population saine de vers à soie Bombyx mori de la race NB7 a été nourrie avec des cocci pathogènes isolés sur un échantillon de vers à soie malades prélevés dans un élevage à la ferme. Les survivants de la première génération ont été à nouveau infectés avec la même dose d'inoculum bactérien à la deuxième et à la troisième génération. L'incidence de la flacherie est relevée dans chaque génération. Les observations montrent que la résistance se développe progressivement et que l'incidence de la flacherie diminue de manière consécutive (54,625 %, 37,00 % et 32,167 % chez les 1ère, 2ème et 3ème générations, respectivement) pour atteindre une résistance de 41,11 % à la troisième génération. Aucun changement significatif n'est observé dans les caractères du cocon.

INTRODUCTION

Le ver à soie *Bombyx mori* est l'un des insectes les plus sensibles aux infections bactériennes, ce qui entraîne une lourde perte dans les récoltes de cocons due à la flacherie. Nos travaux antérieurs sur l'étude des maladies du ver à soie dans le Karnataka (Inde) ont révélés que les infections bactériennes seules représentaient 57,22 % de l'ensemble des infections connues (Samson et coll., 1989). De nombreux chercheurs ont tentés de développer chez les insectes une résistance aux infections bactériennes par induction artificielle de la maladie puis sélection des survivants sains de la population (Goldman et coll., 1986). Newman et Feng (1982) ont étudié la sensibilité et la résistance du crabe du rocher *Cancer irroratus* aux infections bactériennes artificielles. Une souche résistante de vers à soie à l'induction de virus a également pu être obtenue par traitement au froid et par sélection sur treize générations (Aizawa et coll., 1961). Watanabe (1967) a sélectionné les larves survivantes d'une souche sensible nourrie avec un virus pendant huit générations et a pu observer le développement d'une résistance au CPV.

De rares tentatives ont été faites jusqu'à présent en Inde pour sélectionner les survivants résistants chez les populations de vers à soie après exposition artificielle aux bactéries. De ce fait, nous avons jugé utile d'entreprendre une étude sur l'induction de la résistance chez les survivants sélectionnés après inoculation par voie orale d'une dose de cocci pathogènes isolés sur des échantillons de larves atteintes de flacherie.

MATERIELS ET METHODES

Une souche de cocci pathogènes isolée sur le terrain à partir de larves atteintes de flacherie et présentant un corps flétri, une peau molle, un aspect flasque, une croissance retardée ainsi qu'une couleur brun clair a été cultivée dans un milieu nutritif gélosé en laboratoire suivant les méthodes habituelles. La bactérie est conservée par repiquage hebdomadaire, sa pureté est contrôlée au microscope. Une population de vers à soie de la race NB7 bivoltine fournie par le C.S.R. & T.I. de Mysore a été élevée jusqu'à la troisième mue. Avant la reprise du premier nourrissage, une dose

($3,3 \times 10^5$ bactérie/ml) de la souche bactérienne décrite ci-dessus a été appliquée sur les feuilles de mûrier qui sont données comme aliment aux vers à soie. Chaque réplicat comprend 200 larves, trois réplicats ont été traités et trois réplicats ont été conservés comme témoins (sans induction). Les vers à soie sont élevés suivant les méthodes habituelles d'élevage (Krishnaswamy et coll., 1973).

On enregistre quotidiennement les observations sur l'infection bactérienne dont les symptômes sont spécifiques de la flacherie bactérienne décrite plus haut. Les larves survivantes sont mises à filer et les pontes sont recueillies. Les pontes ainsi obtenues sont également élevées, puis, après la troisième mue, elles sont soumises à une dose identique de cocci pathogènes. Les observations recueillies concernent les caractères larvaires, les caractères du cocon et le pourcentage d'incidence de la flacherie bactérienne à la deuxième génération. Le même traitement est répété à la troisième génération, les observations sont relevées et analysées statistiquement afin de déterminer le niveau de signification. Avant l'inoculation, on vérifie la pathogénicité de la bactérie sur un échantillon larvaire et, chaque fois, on vérifie la similarité de la pathogénicité.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données sur les caractères de la larve et du cocon des lots traités et des témoins sont présentées dans le tableau I. L'incidence de la flacherie et des autres maladies est présentée dans le tableau II.

On remarque une légère diminution du poids larvaire chez les lots traités par rapport au témoin pour les 2ème et 3ème générations. On n'observe un changement statistiquement significatif du poids du cocon individuel et du poids de la coque chez aucune des trois générations. Cependant, on note une diminution significative de pourcentage de la coque à la troisième génération chez les lots traités alors qu'il n'y a pas de différence significative chez les deux premières générations.

On observe une diminution progressive de la flacherie bactérienne de la 1ère à la 3ème génération. A la première génération, le pourcentage d'incidence de la flacherie est de 54,625 alors que chez le témoin l'incidence est de 12,75 %. Cette différence de 41,875 % dans l'incidence de la flacherie est attribuée à l'induction artificielle de la flacherie. On observe, chez les survivants de la première génération soumis à une dose identique de l'agent pathogène bactérien, une diminution significative de l'incidence de la flacherie bactérienne, c'est-à-dire, une diminution de 54,625 % à 37,00 %. De même, un traitement identique sur les survivants de la deuxième génération donne une incidence de 32,167 % à la troisième génération. Il n'y a aucun changement dans le niveau d'incidence de la maladie chez les générations successives des lots témoins.

Ces résultats montrent clairement que la sensibilité diminue progressivement et que l'on peut, de ce fait, observer le développement d'une résistance chez les survivants de chaque génération. A la troisième génération, on obtient une résistance de 41,11 %, ce qui est tout à fait encourageant. Les résultats de cette étude sont confirmés par divers chercheurs. Georhiou et coll. (1983) sont parvenus à multiplier par deux la résistance à *B. thuringiensis israelensis* après 32 générations chez *Culex quinquefasciatus* soumis à une pression de sélection de LC 95. Wilson et Burns (1968) ont obtenu une résistance à l'exotoxine de *B. thuringiensis* six fois plus élevée chez les populations de laboratoire de *M. domestica* après 25 générations. McGaughey (1985) a obtenu une résistance 100 fois plus élevée à *B. thuringiensis* chez *Plodia interpunctella* après 15 générations. Goldman et coll. (1986) ont réalisés des expériences sur une population en laboratoire et deux populations sauvages du moustique de la fièvre jaune *Aedes aegypti* en vue de faire une sélection artificielle des individus résistants à *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* et ont mis en évidence une modification significative (double) après 14 générations.

Les données obtenues dans cette étude sont conformes aux résultats des auteurs mentionnés ci-dessus. Cependant, la présente étude ouvre de nouvelles possibilités d'études dans cette direction.

EFFECT OF VARIOUS MOUNTAGES ON THE COCOONING OF THE MUGA SILKWORM, *ANTHERAEA ASSAMA* WESTWOOD

A. BARAH & M.V. SAMSON

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Ministry of Textiles, Mirza 781 125, Assam, India.

*Four different mountages have been tried to improve the efficiency of spinning, pupation, and cocoon characters of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww. All the mountages studied exhibit superiority over the traditional semi-dried plant foliage in respect of cocooning, pupation and qualitative and quantitative characters of cocoons. Counter board and chandraki are recommended as ideally suitable mountages for the muga silkworm after proper modification of size and design for commercial exploitation.*

Keywords : Mountage, collapsible plastic, counter board, chandraki, collapsible wiremesh, muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., cocooning, pupation, cocoon weight, shell weight, silk ratio, single cocoon filament length, denier, reelability, oviposition, potential fecundity.

INTRODUCTION

Provision of a substratum for cocooning is a must in domesticated and semi-domesticated silkworms. Mountages, or substrata, for cocooning in the form of perforated bamboo with bamboo spirals (Chandraki), centipede rope mountage, straw cocooning frames, etc., are widely used for spinning of *Bombyx mori* L. in India (Krishnaswamy *et al.*, 1973). In Japan, rotary, spiral, bottlebrush, counter board and collapsible mountages are also used for the cocooning of *Bombyx mori* L. (Katsumata, 1975). *Philosamia ricini* Hutt. includes chandraki and dry leaf mountages (Jolly *et al.*, 1979; Thangavelu and Barah, 1986) for successful spinning. While the domesticated silkworms have definite cocoonage for efficient cocooning, the semi-domesticated muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., is left on semi-dried leaves of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*), mango (*Mengifera indica*), sal (*Shorea robusta*), etc. (Choudhury, 1981). The disadvantages are a limited area for cocooning and failure to judge the optimum number of ripened larvae for mounting. It is also felt that because of an improper area, the wastage of silk (floss) is much higher than in a regular mountage. To improve the efficiency of spinning, quality of cocoon and pupation, it is essential to test the effectiveness of various mountages.

Except the observation of Paliwal and Das (1988), no other information is available on the study of the mountages used for the cocooning of the muga silkworm, *A. assama* Ww. In the present study, the authors have experimented with the effect of four different types of mountages on the cocooning and other cocoon characteristics of the muga silkworm.

MATERIALS AND METHODS

Four different types of mountages, usually used for cocooning of the mulberry silkworm, viz. (1) collapsible plastic, (2) counter board (3), chandraki and (4) collapsible wiremesh, were selected for this study (Fig. 1, 2, 3, 4). The traditional semi-dried jackfruit leaf mountage served as control

Table I. Effect of various mountages on the cocoon characters of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww.Tableau I. Effets de divers montages sur les caractères du cocon du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww.

Type of mountage	Cocooning percentage	Pupation percentage	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Silk ratio (%)	Emergence percentage	Oviposition (No.)	Potential fecundity (No)
Type de montage	Pourcentage de filage	Pourcentage de chrysalidation	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Pourcentage d'émergence	Oviposition (Nombre)	Potentiel de de fécondité (Nombre)
Collapsible plastic	99.50**	97.20*	6.045 ^{NS}	0.486*	8.04*	93.67*	122.2 ^{NS}	143.8 ^{NS}
Plastique démontable								
Counter board	99.10*	96.60*	6.378*	0.497**	7.78*	93.67*	160.0 ^{NS}	179.2 ^{NS}
Carton								
Chandraki	98.60*	95.60*	6.162*	0.464*	7.53*	88.33 ^{NS}	176.8 ^{NS}	206.0 ^{NS}
Chandraki								
Collapsible wiremesh	98.63*	95.63 ^{NS}	6.083 ^{NS}	0.469**	7.73**	91.33 ^{NS}	148.6 ^{NS}	178.6 ^{NS}
Toile métallique démontable								
Jackfruit dry leaf	95.83	90.47	5.770	0.406	7.07	84.33	173.8	180.6
(control)								
Feuilles séchées d' Artocarpus heterophyllus (témoin)								

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

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

NS : Not significant / Non significatif.

(Fig. 5). All four types of mountages except control were covered with a black cloth to prevent the dispersal of the larvae and to create an ideal dark atmosphere for successful spinning. For each mountage, three replications of 150 larvae/replication were utilized. The experiment was repeated three times during 1987. The various parameters studied include percentage of cocooning and pupation, cocoon and shell weight, silk ratio, single cocoon filament length, weight of reelable silk and waste per cocoon, reelability, percentage of emergence, oviposition and potential fecundity.

For the assessment of cocoon characters like cocoon and shell weight, silk ratio, single filament length, weight of reeled silk and waste and reelability, 50 cocoons from each type of mountage were considered as described by Krishnaswamy *et al.* (1972) and Barah *et al.* (1988). For the determination of oviposition and potential fecundity, 25 mated females from each mountage were considered.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the effect of the different mountages are presented in Tables I and II and discussed as follows under the concerned headings.

Percentage of cocooning :

Irrespective of the type of mountage used, the percentage of cocooning is observed to be significantly higher than the control. The highest percentage of cocooning (99.5 %) is achieved in collapsible plastic mountage.

Percentage of pupation :

Except the collapsible wiremesh mountage, all the other mountages show significantly better percentages of pupation over the control.

Cocoon weight :

Cocoon weight is recorded to be superior in all four types of new mountages to the control, however, it is statistically different only in counter board and chandakri (6.378 g and 6.162 g).

Shell weight :

In respect of shell weight, the new mountages exhibit superiority over the traditional semi-dried foliage mountage. The maximum shell weight (0.497 g) is recorded in the counter board type.

Silk ratio :

Cocoons from all the mountages are found to give significantly higher percentages of silk ratio than the control, the highest (8.04 %) being in the collapsible plastic mountage.

Single cocoon filament length, number of breakages and denier :

With regard to single cocoon filament length, all the new mountages are superior to the traditional one. However, the number of breakages and denier of the filament are not found significant.

Reeled silk, waste and reelability :

The weight of reeled silk of the individual cocoon from each of the new mountages are observed to be higher than the control, though it is not statistically significant. Significant differences in silk waste of the individual cocoon and percentage of reelability do not exist between new and traditional mountages.

Emergence :

Percentage of emergence is found better in all four types of mountages over control, but it is significant only in collapsible plastic and counter board mountages.

Oviposition and potential fecundity :

Oviposition and potential fecundity do not differ significantly between control and new mountages.

Table II. Effect of various mountages on the cocoon characters of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww.Tableau II. Effet de divers montages sur les caractères du cocon du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww.

Type of mountage	Single cocoon filament length (m)	Weight of reeled silk (g)	Weight of silk waste (g)	Number of breaks	Denier	Reelability (%)
Type de montage	Longueur de la bave par cocon (m)	Poids de la soie dévidée (g)	Poids du déchet de soie (g)	Nombre de cassures	Denier	Dévidabilité (%)
Collapsible plastic	496.350**	0.27 ^{NS}	0.25 ^{NS}	4.5 ^{NS}	4.9 ^{NS}	52.31 ^{NS}
Plastique démontable						
Counter board	485.437**	0.26 ^{NS}	0.24 ^{NS}	3.5 ^{NS}	4.9 ^{NS}	51.64 ^{NS}
Carton						
Chandraki	468.900**	0.25 ^{NS}	0.25 ^{NS}	3.7 ^{NS}	4.8 ^{NS}	50.50 ^{NS}
Chandraki						
Collapsible wiremesh	487.562**	0.26 ^{NS}	0.25 ^{NS}	3.3 ^{NS}	4.8 ^{NS}	50.41 ^{NS}
Toile métallique démontable						
Jackfruit dry leaf (control)	435.262	0.24	0.25	4.5	4.9	49.02
Feuilles séchées d' Artocarpus heterophyllus (témoin)						

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

NS : Not significant / Non significatif.

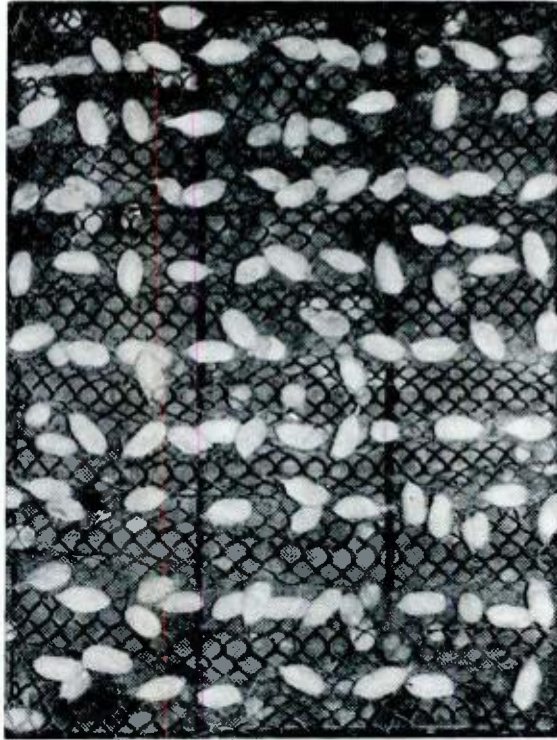


Fig. 1 : Collapsible plastic mountage.

Fig. 1 : Cadre plastique démontable.

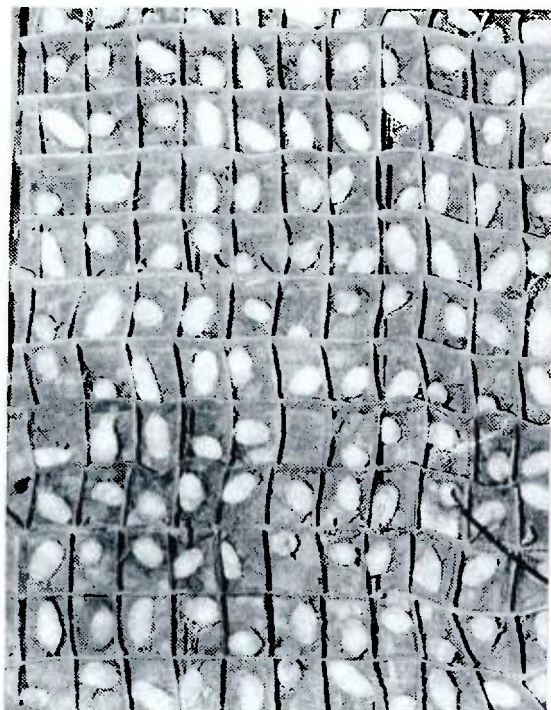


Fig. 2 : Counter board type mountage.

Fig. 2 : Cadre en carton.

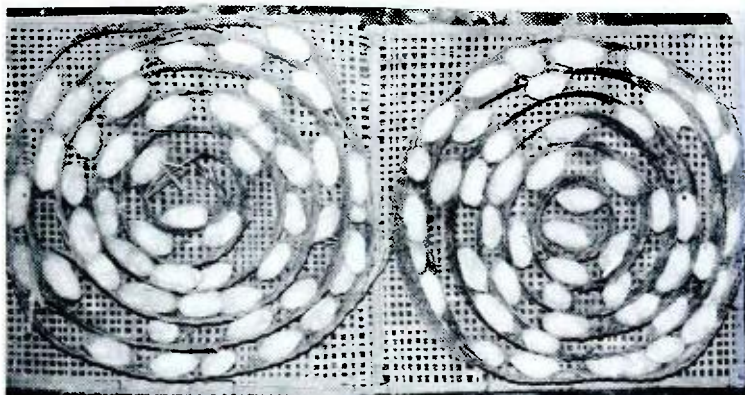


Fig. 3 : Chandraki type mountage.

Fig. 3 : Cadre type chandraki.

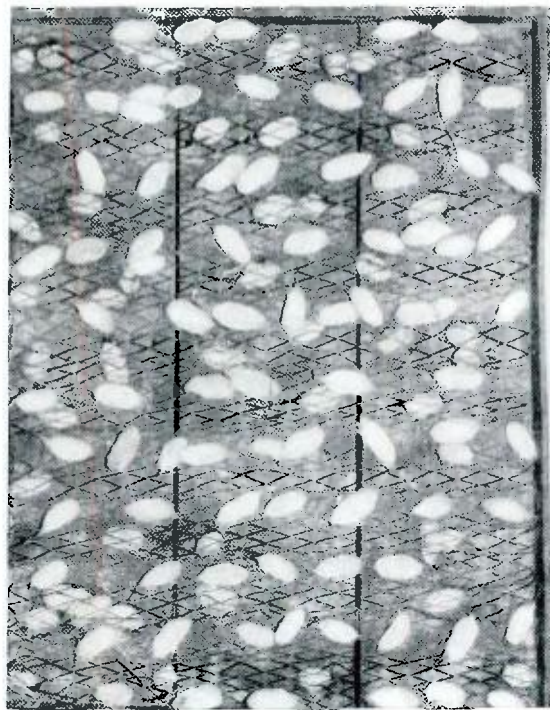


Fig. 4 Collapsible wiremesh mountage.

Fig. 4 : Cadre en toile métallique démontable.



Fig. 5 : Jackfruit dry leaf mountage.

Fig. 5 : Montage sur feuilles séchées d'Artocarpus heterophyllus.

It is evident from the study that there is scope for the utilization of mountages other than the traditional semi-dried plant foliage for improving percentage of cocooning and pupation, cocoon and shell weight, percentage of silk ratio as well as single cocoon filament length.

Of the various mountages studied, counter board and bamboo chandraki with a black cloth covering are ideally suited for cocooning. The advantages over the traditional one are (a) uniform cocooning, (b) better pupation, (c) improved qualitative and quantitative characters of cocoons, (d) easy harvest, (e) economical and labour saving and (f) repeated utilization of the same mountage.

However, for commercial exploitation, further modifications in the size and design of the mountages are required which are being pursued.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are thankful to Sri Bholaram Borah, S.R.A., for assistance in the study.

REFERENCES

- BARAH A., PHUKAN S.N., SAMSON M.V. (1988), Variation in cocoon characters of *Antheraea assama* Ww during different seasons. *Sericologia*, 28(2), 215-218.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979), Non-mulberry silks. *FAO Agricult. Services Bull.*, Rome, 29, 132, 151.
- KRISHNASWAMY S., MADHAVARAO N.R., SURYANARAYANA S.K., SUNDARAMURTHY T.S. (1972), *Sericulture manual 3 - Silk reeling*. *FAO Agricult. Services Bull.*, Rome, 15/3, 19-38
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARARAJ S. (1973). *Sericulture manual 2 - Silkworm rearing*. *FAO Agricult. Services Bull.*, Rome, 15/2, 61.
- KATSUMATA F. (1975), *Silkworm mounting*. *Textbook of tropical sericulture*. Japan Overseas Co-operation Volunteers, Tokyo, Japan, 503-519.
- PALIWAL D.P., DAS P.K. (1988), Evolution of a new cocoonage for muga. *Indian silk*, 27(1), 34-35.
- CHOUDHURY S.N. (1981), Muga silk industry. *Directorate of sericulture and weaving, Assam*, 61.
- THANGAVELU K., BARAH A. (1986), *Lectures in sericulture*. Suramya publication, Bangalore, 137-139.

EFFET DE DIVERS ENCABANAGES SUR LE FILAGE DU VER A SOIE MUGA *ANTHRAEA ASSAMA* WESTWOOD

A. BARAH & M.V. SAMSON

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Ministry of Textiles, Mirza 781 125, Assam, Inde.

*On a testé quatre encabanages différents dans le but d'améliorer l'efficacité du filage, de la pupaison et des caractères du cocon du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww. Tous les encabanages étudiés se révèlent supérieurs au montage traditionnel sur feuilles semi-séchées pour le filage, la pupaison et les caractères quantitatifs et qualitatifs du cocon. On recommande d'utiliser les encabanages en carton et la chandraki, ces montages étant les plus adaptés au ver à soie muga après modification appropriée de leur taille et de leur forme en vue de l'exploitation commerciale.*

INTRODUCTION

Pour l'élevage des vers à soie domestiques et semi-domestiques, il est indispensable de prévoir un support pour le filage des cocons. Les encabanages destinés au filage existent sous diverses formes : le bambou perforé contenant des spirales en bambou (chandraki), les montages en corde, les cadres de filage en paille, etc. Ils sont largement répandus en Inde pour le filage de *Bombyx mori* L. (Krishnaswamy et coll., 1973). Au Japon, on utilise également, pour le filage de *Bombyx mori* L., les encabanages rotatifs, hélicoïdaux, les hérissons, les cartons et les montages démontables (Katsumata, 1975). Chez *Philosamia ricini* Hutt., les montages chandraki et sur feuilles sèches (Jolly et coll., 1979 ; Thangavelu et Barah, 1986) permettent d'obtenir un bon filage. Alors que les vers à soie domestiques disposent d'encabanages conçus dans le but de favoriser le meilleur filage possible, le ver à soie semi-domestique *Antheraea assama* Ww. est simplement posé sur des feuilles séchées d'*Artocarpus heterophyllus*, de manguier (*Mangifera indica*), de sal (*Shorea robusta*), etc. (Choudhury, 1981). Les inconvénients de ces pratiques résident dans le fait que la surface de filage est réduite et que l'on ne peut estimer le nombre de larves prêtes à monter. Il semble également que ces surfaces inadaptées aient pour résultat une perte de soie (blaze) beaucoup plus importante que les encabanages traditionnels. Afin d'améliorer le rendement du filage, la qualité des cocons et la pupaison, il est indispensable d'évaluer l'efficacité de divers montages.

Aucune information n'existe sur l'étude des encabanages utilisés pour le filage du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww., hormis la publication de Paliwal et Das (1988). Dans la présente étude, les auteurs expérimentent l'effet de quatre types différents d'encabanage sur le filage et sur d'autres caractères du cocon chez le ver à soie muga.

MATERIELS ET METHODES

Quatre différents types d'encabanages, normalement utilisés pour le filage du ver à soie du mûrier - (1) le plastique démontable, (2) le carton, (3) la chandraki et (4) la toile métallique démontable - sont choisis pour cette étude (Fig. 1, 2, 3, 4). Le montage traditionnel sur feuilles d'*Artocarpus heterophyllus* semi-séchées sert de témoin (Fig. 5). Les quatre types de montage, sauf le témoin, sont recouverts d'une toile noire pour empêcher la dispersion des larves et, en créant une obscurité idéale, favoriser le filage. Pour chaque encabanage, on utilise trois répliqués de 150 larves. L'expérience a

été répétée quatre fois au cours de l'année 1987. Les divers paramètres étudiés comprennent le pourcentage de filage et de pupaison, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave par cocon, le poids de soie dévidable, la perte par cocon, la dévidabilité, le pourcentage d'émergence, l'oviposition et la fécondité.

Pour l'évaluation des caractères du cocon (poids du cocon, poids de la coque, richesse soyeuse, longueur de la bave par cocon, poids de soie dévidée, perte de soie et dévidabilité), 50 cocons sont observés sur chacun des montages suivant les indications de Krishnaswamy et coll. (1972) et Barah et coll. (1988). Pour déterminer l'oviposition et le potentiel de fécondité, 25 femelles fécondées sont observées sur chacun des montages.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'effet des différents types d'encabanage sont donnés dans les tableaux I et II. Ils sont discutés ci-dessous suivant les titres de colonnes.

Pourcentage de filage :

Quel que soit le type d'encabanage utilisé, on observe que le pourcentage de filage est nettement supérieur à celui du témoin. Le pourcentage de filage le plus élevé (99,5 %) est obtenu avec le cadre en plastique démontable.

Pourcentage de pupaison :

Tous les encabanages, sauf la toile métallique démontable, donnent un pourcentage très supérieur à celui du témoin.

Poids du cocon :

On observe que le poids du cocon est supérieur pour les quatre types d'encabanage à celui du témoin. Cependant, il est statistiquement significatif uniquement pour le carton et la chandraki (6,378 g et 6,162 g).

Poids de la coque :

En ce qui concerne le poids de la coque, les nouveaux encabanages se montrent supérieurs au montage traditionnel sur feuilles semi-séchées. Le poids maximum de la coque (0,497 g) est obtenu avec le cadre en carton.

Richesse soyeuse :

Pour tous les encabanages, les cocons donnent une richesse soyeuse nettement supérieure au témoin, la plus élevée (8,04 %) étant obtenue avec l'encabanage en plastique démontable.

Longueur de la bave par cocon, nombre de cassures et denier :

En ce qui concerne la longueur de la bave par cocon, tous les nouveaux encabanages sont supérieurs au montage traditionnel. Toutefois, on remarque que le nombre de cassures et le denier de la bave ne sont pas significativement différents.

Soie dévidée, perte et dévidabilité :

Le poids de soie dévidée par cocon pour chacun des nouveaux encabanages est supérieur à celui du témoin, bien qu'il ne soit pas significativement différent. Il n'y a pas de différence significative pour la perte de soie et pour le pourcentage de dévidabilité entre les nouveaux encabanages et le montage traditionnel.

Emergence :

Le pourcentage d'émergence pour les quatre encabanages est supérieur à celui du témoin, mais il est significatif uniquement pour les cadres en plastique démontable et en carton.

Oviposition et fécondité :

En ce qui concerne l'oviposition et la fécondité, il n'y a pas de différence significative entre le témoin et les nouveaux encabanages.

Il est évident, d'après cette étude, que l'utilisation d'encabanages autres que le support traditionnel en feuilles semi-séchées permet d'améliorer certains caractères comme le pourcentage de filage, le pourcentage de pupaison, le poids de la coque, la richesse soyeuse ainsi que la longueur de la bave par cocon.

Des divers encabanages étudiés, le cadre en carton et la chandraki en bambou, recouverts d'une toile noire, sont tout à fait adaptés au filage. Par rapport au support traditionnel, ils présentent les avantages suivants : (a) un filage uniforme, (b) une meilleure pupaison, (c) une amélioration qualitative et quantitative des caractères du cocon, (d) une récolte facile, (e) une économie d'argent et de travail et (f) une utilisation répétée du même encabanage.

Cependant, pour l'exploitation commerciale, il est nécessaire de procéder à des modifications supplémentaires de la taille et de la forme des encabanages. Ce travail est en cours.

EVALUATION OF GERMPLASM GENOTYPES FOR DROUGHT RESISTANCE IN MULBERRY

B.N. SUSHEELAMMA, M.S. JOLLY, K. GIRIDHAR & K. SENGUPTA

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

Ninety-two diverse germplasm genotypes were evaluated for ten morpho-physiological traits like stomatal frequency, stomatal size, leaf thickness, cuticle thickness, palisade parenchyma to spongy parenchyma ratio, moisture retention capability, length of the root, dry weight of the root, root to shoot ratio by length and root to shoot ratio by weight and ten yield components like number of primary and secondary branches per plant, length of the shoot, internodal distance, number of leaves per meter length of the shoot, leaf area, weight of 100 leaves, moisture percentage and percentage of sprouting and rooting. On the basis of evaluation results, genotypes were grouped into low, medium and high frequency class. Considerable genetic variability was observed in all the evaluated genotypes of germplasm. Finally 23 genotypes were isolated on the basis of yield components, morphological, anatomical and physiological traits of drought resistance. These genotypes were also evaluated with check cultivars for leaf yield under natural stress condition. Among 23 genotypes, ACC-142 and ACC-109 yielded maximum. Therefore, ACC-142 and ACC-109 were considered as drought resistant genotypes.

Keywords : Drought resistance, evaluation, variability, yield components.

INTRODUCTION

Responses of plants to water stress are composed of two components as proposed by Levitt (1972). One is drought avoidance in which the plants postpone dehydration and the other is drought tolerance in which plants have ability to survive dehydration. Drought resistance of plants is acquired by various mechanisms of adaptation.

The genetics of drought resistance in cross pollinated crops are governed by quantitative inheritance. Once the drought resistant characters are identified through morpho-physiological parameters, populations should be created which have combinations of more than one such character (Hurd, 1976). The root pattern of potential parents in a breeding programme for drought resistance is one of the most important aspects to reckon with. It is evident that the measurement of drought resistance and drought stress has been a bottleneck in identifying drought resistant plants (Levitt, 1964).

Drought tolerance adaptations involving dehydration tolerance would be most advantageous in mulberry plants in which leaf production is of primary importance. Dehydration tolerance adaptations will allow a range of plants to produce maximum leaf growth at a given water potential. Hanson (1972) stressed the importance of diverse germplasm pools in increasing the genetic diversity for selection and improvement in the frequency of genes for potentially valuable plant characteristics. The efficient utilization of genetic resources requires that they are adequately classified and evaluated. Difference in cuticular resistance to water loss has been observed in detached leaves of different clones of *Camellia sinensis* (Nagarajah, 1979). Drought resistance has been frequently associated with a high bound water content or high water retaining capacity (Mamaeva, 1970). Water content

and water retention of excised leaves were proposed as indices in screening for drought resistance (Dedio, 1975; Clarke and McCaig 1982).

In mulberry extensive root system showed positive correlation with moisture retention capability of leaves (Susheelamma and Jolly, 1986).

Morphological characters like thick cuticle, small size of stomata, increased palisade tissue, reduction in number and size of leaves has been interpreted as a highly effective means of adaptation to occasional or periodic drought (Slayter, 1964 ; Orshan, 1972 ; Sen, 1982).

The anatomical morphological and physiological constitution of a resistant cultivar may allow it to maintain high photosynthetic activity under stress by restricting transpiration water loss (Stocker, 1961). Therefore, in mulberry ten morpho-physiological traits were identified to evaluate germplasm genotypes for drought resistance.

The ultimate test of stress resistance is yield trial conducted in the field under typical drought conditions (Aufhammer *et al.*, 1959 ; Hageman *et al.*, 1967 ; Hurd, 1971). Hurd (1976) suggested that after identification of drought resistant characters in different genotypes, they should be grown under drought stress conditions and selected for better performance. Ample evidence is available in recent years, indicating that genetic variation exists within crop plant species in various components of drought resistance (Blum, 1980). Drought resistance in woody species is polygenically controlled and phenotypically expressed by morphological and physiological adaptations (Bolotin, 1969). In the present investigation 92 germplasm accessions including 8 released varieties, 38 exotic introductions and 46 indigenous land races were critically analysed for ten morpho-physiological traits contributing to drought avoidance/resistance and for ten yield components contributing to leaf yield.

MATERIALS AND METHODS

For stomatal studies 5th, 6th and 7th leaves from the top of three-month-old shoots of all the accessions were collected at 9 a.m. in a beaker containing water. Subsequently a thin film of quickfix was applied on the lower surface of the leaf. Stomatal impressions were peeled out and the frequency was determined. Twenty microscopic fields were observed for each accession. Stomatal frequency per meter square was determined. The average length and breadth of guard cell was determined on 20 measurements from all the three leaves for final consideration. For leaf and cuticle thickness, hand sections of tender, medium and mature leaves were used.

Sections were stained with 1% safranin and mounted in 50 % glycerine. Thickness of leaf, cuticle, palisade parenchyma and spongy parenchyma were measured (in μm). In all the cases, a minimum of 10 readings were taken and the mean was calculated. To determine the moisture retention capability, 100 leaves of all the age groups were collected and kept in open condition at laboratory temperature for 24 h. and the weight (m_g) was taken. Further, leaves were dried thoroughly at 80°C for 48 h in the oven and the weight (m_d) was taken. The moisture retention capability (M_{rc}) was calculated using the formula

$$M_{rc} = \frac{m_g - m_d}{m_g} \times 100$$

For root proliferation studies, similar cuttings from mature shoots of all the accessions were planted in earthen pots of dimension $65 \times 40 \times 40$ cm (height $\times$ breadth $\times$ width). They were allowed to grow for three months. They were watered once in eight days. After three months, saplings were uprooted without damaging the root system. Roots were washed thoroughly and the length of the root and the shoot were measured using a meter scale. Fresh weights of roots and the shoot were measured using Shimadzu top loading balance. Fresh weight of roots and shoots were recorded. Later they were dried in oven for 48 h at 80°C . After insuring the complete dryness, weights of root and shoot were taken separately. Root to shoot ratio by length and by weight were calculated.

Nine plants of germplasm were maintained in each of the 92 genotypes under identical conditions. The plants of all the 92 accessions were pruned during the month of June and were allowed to grow. After 60 days of pruning (i. e., during August-rainy season) growth observations were

recorded. During the subsequent two seasons of the year (December-Winter season, April-summer season) again yield components of all the seasons were computed for class frequency. To determine the internodal distance, number of nodes present on each shoot was counted and thus number was divided by length of the shoot.

Mean internodal distance of all the nine plants was calculated. One hundred leaves were collected randomly from the top, middle and base portions of the shoot at morning 9 a.m. in polythene bag, weight of these leaves was found out using Shimadzu top loading balance. Fresh weight (M_1) of the leaves was recorded by using Shimadzu top loading balance. Then the leaves were dried in oven at 80°C for 48 h. Dry weight (m_d) of the leaves was recorded. The moisture content (m_c) was calculated using the formula

$$M_c = \frac{M_1 - m_d}{m_1} \times 100$$

To determine the percentage of sprouting and rooting, one hundred cuttings prepared out of ten months old shoots were taken from all the accessions and planted in the nursery beds, accession wise. After 20 days of plantings, the percentage of sprouting was recorded and after three months of planting, the percentage of rooting was recorded on the basis of survival rate. For final evaluation of isolated mulberry genotypes for drought resistance, field experiment was set up. The design followed was simple lattice 5 × 5. Pits were prepared with a dimension of 45 × 45 × 45 cm (length × breadth × height) and were filled with farmyard manure, sand and soil in 1:1:1 proportion. Six-month-old saplings were planted in the pits. Twenty-five microplots were taken up in each replication. Twenty-three germplasm genotypes with two check cultivars (Local and Kanva-2) were planted under natural stress conditions (rainfed condition). The number of replications maintained was four. Each replication was planted with border plants to eliminate border effects. Leaf yield was recorded by harvesting all the leaves of each replication separately noting down the weight with 10 kg capacity weighbird top pan balance. The leaf yield was recorded for three years i.e. during 1983-84, 1984-85 and 1985-86, by harvesting five times a year. The leaf yield data of three years were computed and processed by following the analysis of variance. The data on rainfall for the corresponding periods was recorded. Irrigation was not provided to yield trial experimental plots.

RESULTS AND DISCUSSION

On the basis of the evaluation data on ten morpho-physiological traits like stomatal frequency, stomatal size, leaf thickness, cuticle thickness, palisade parenchyma, length of the root, dry weight of the root, root to shoot ratio by length and root to shoot ratio by weight and ten yield components are grouped into low, medium and high class frequency genotypes. The range of each group with the frequency of accessions are presented in Tables I and II. Accessions showing higher moisture retention capability and other morphological and anatomical features are presented in Table III. Accessions showing higher moisture content, higher sprouting, rooting ability and other yield components are presented in Table IV. Comparison of leaf yield of 23 germplasm genotypes with two check cultivars (Local and Kanva-2) of 3 years is depicted in Fig. 1. The analysis of variance on leaf yield data of 3 years is given in Table V. In the present study the accessions 109, 110, 116, 122, 125, 130, 132, 139, 141, 142, 161, 203, 204, 108, 151, 152, 160, 128, 135, 131, 124, 154 and 114 were isolated basing on morphological, anatomical, physiological traits (Table III) and yield components (Table IV) and were finally evaluated for leaf yield under stress conditions. The accessions 109, 110, 116, 122, 125, 130, 132, 139, 141, 142, 161, 203, and 204 are found to possess deep and extensive root system as well as higher moisture retention capability of leaves (Table III). From this study it is noticed that

Table I. Range of variability in ten morpho-physiological parameters associated with drought resistance/avoidance in 92 germplasm accessions of mulberry.

Tableau I. Etendue de la variabilité de dix paramètres morpho-physiologiques associés à la résistance ou à l'évitement de la sécheresse chez 92 échantillons de la banque génétique de mûriers.

Parameters / Paramètres	Low / Faible			Medium / Moyen			High / Elevé		
	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence
Stomatal Frequency (mm ²) <i>Fréquence des stomates</i>	290-609	449.50	48	610-929	769.50	36	930-1249	1089.50	8
Stomatal size (µm ²) <i>Taille des stomates</i>	118- 266.03	192.02	76	266.04 414	340.06	15	415- 562.11	488.10	1
Leaf thickness (µm) <i>Epaisseur de la feuille</i>	107.60- 130.15	118.88	18	130.16- 152.71	141.44	59	152.72- 175.00	163.99	15
Cuticle thickness (µm) <i>Epaisseur de la cuticule</i>	1.67- 3.50	2.59	47	3.51- 5.34	4.43	41	5.35- 7.18	6.27	4
Palisade Parenchyma <i>Parenchyme en palissade</i>	0.53- 1.18	0.86	24	1.19- 1.84	1.52	64	1.85- 2.50	2.18	4
Spongy Parenchyma (ratio) <i>Parenchyme spongieux</i>	1.18			1.84			2.50		
Moisture retention capability (%) <i>Capacité rétention humidité</i>	45.00- 55.00	50.00	6	56.00- 65.00	60.50	77	66.00- 75.00	70.50	9
Length of the root (cm) <i>Longueur racine</i>	5.00- 26.00	15.50	29	27.00- 48.00	37.50	44	49.00- 70.00	59.60	19
Dry weight of the root (g) <i>Poids sec racine</i>	0.10- 4.35	2.28	64	4.36-6.49 8.61	20	8.62- 12.87	10.75 12.87	8	
Root/shoot ratio by length (ratio) <i>Rapport racine/tige (longueur)</i>	0.01- 0.86	0.44	38	0.87- 1.73	1.30	43	1.74- 2.60	2.17	3
Root/shoot ratio by weight (ratio) <i>Rapport racine/tige (poids)</i>	0.19- 0.68	0.44	63	0.69- 1.18	0.94	19	1.19- 1.68	1.44	2

Table II. Range of variability observed in eight yield components contributing towards leaf yield & two traits contributing towards vegetative propagation in 92 germplasm accessions of mulberry.

Tableau II. Etendue de variabilité observée pour huit composants du rendement agissant sur le rendement en feuilles et deux caractères agissant sur la propagation végétative chez 92 échantillons de la banque génétique de mûriers.

Parameters / Paramètres	Low / Faible			Medium / Moyen			High / Elevé		
	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence	Range Etendue	Mid value Valeur moyenne	Frequency Fréquence
Number of primary branches per plant / Nb de ramifications primaires par plant	3.00-16.00	9.5	57	17.00-30.00	23.50	26	31.00-44.00	37.50	09
Number of secondary branches per plant / Nb de ramifications secondaires par plant	2.00-11.00	6.5	14	12.00-19.00	15.5	06	20.00-29.00	24.50	05
Average length of the shoot (cm) / Longueur moyenne de la pousse	57.00-135.00	96.00	41	136.00-214.00	175.00	39	215.00-293.00	254.00	12
Internodal distance (cm) / Distance internodale (cm)	2.00-4.00	03.0	47	4.10-6.10	5.00	43	6.20-8.20	7.00	02
Number of leaves per metre / Nb de feuilles par mètre	13.00-20.00	16.50	12	21.00-28.00	24.50	70	29.00-36.00	32.50	10
Length of the shoot (No) / Longueur de la pousse									
Leaf area (cm ²) / Surface foliaire (cm ²)	97.50-138.50	118.00	37	138.60-179.50	159.00	50	179.60-220.50	200.00	05
Weight of 100 leaves (g) / Poids de 100 feuilles (g)	98.00-408.00	253.00	40	409.00-710.00	564.00	42	720.00-1030.00	880.00	10
Moisture percentage / Taux d'humidité	56.00-64.00	60.00	07	64.00-72.00	68.00	73	72.00-80.00	76.00	12
Sprouting percentage / Bourgeonnement (%)	0.00-33.00	16.50	37	33.00-66.00	49.50	21	66.00-99.00	82.50	34
Rooting percentage / Racinement (%)	0.00-33.00	16.50	34	33.00-66.00	49.50	24	66.00-99.00	82.50	34

Table III. After evaluation of germplasm, accessions showing higher moisture retention capability and other morphological and anatomical features.

Tableau III. Après évaluation de la banque génétique, génotypes montrant une capacité de rétention d'humidité et d'autres traits morphologiques et anatomiques les plus forts.

Accession Numbers	Stomatal Frequency (mm ²)	Stomatal Size (µm ²)	Cuticle Thickness (µm)	Total thickness of leaf (µm)	Palisade parenchyma to spongy parenchyma (ratio)	Root length (cm)	Dry Wt of root (g)	Root to shoot ratio by length	Root to shoot ratio by weight	Moisture retaining capacity (%)
<i>Echantillon</i>	<i>Fréquence des stomates (mm²)</i>	<i>Taille des stomates (µm²)</i>	<i>Épaisseur de la cuticule (µm)</i>	<i>Épaisseur totale de la feuille (µm)</i>	<i>Tissu en palissade sur parenchyme lacuneux (rapport)</i>	<i>Longueur de la racine (cm)</i>	<i>Poids sec de la racine (g)</i>	<i>Rapport longueur racine/pousse</i>	<i>Rapport poids racine/pousse</i>	<i>Capacité de rétention d'humidité (%)</i>
203	425.04	146.28	4.20	129.00	1.57	50.00	11.89	1.25	0.98	74.00
204	553.00	183.99	4.20	146.00	1.44	69.00	9.32	1.42	0.87	71.00
142	954.80	210.00	2.00	134.87	1.46	65.00	9.88	1.18	0.77	63.10
132	431.00	192.00	3.84	150.00	1.44	49.00	6.87	0.99	0.38	68.00
124	694.54	224.00	4.51	163.76	1.40	31.50	4.89	1.12	0.63	61.26
135	962.50	196.00	2.67	141.52	1.62	32.50	4.69	0.73	0.57	62.70
139	549.01	222.00	5.01	144.45	1.46	62.00	7.60	0.99	0.89	60.80
116	572.88	179.00	3.51	142.98	1.35	56.00	2.56	1.40	0.33	65.50
109	746.90	259.00	3.51	131.40	1.36	68.00	11.07	0.94	0.86	62.70
110	686.84	193.00	3.01	128.98	1.58	65.00	8.51	0.87	0.80	62.50
108	480.48	191.00	4.51	114.97	0.76	48.50	6.38	1.07	0.49	62.50
114	545.16	190.00	2.33	128.23	1.47	44.50	4.60	1.15	0.70	66.10
125	930.16	214.00	2.51	163.61	1.19	49.00	3.33	0.68	0.41	66.30
128	599.06	172.00	2.83	149.61	1.61	35.00	3.48	0.77	0.24	65.00
131	516.00	224.00	2.84	104.00	1.39	40.00	4.40	1.20	0.50	64.25

Continued / Suite page suivante

Table III. Continued / *Tableau III. Suite*

Accession Numbers	Stomatal Frequency (mm ²)	Stomatal Size (µm ²)	Cuticle Thickness (µm)	Total thickness of leaf (µm)	Palisade parenchyma to spongy parenchyma (ratio)	Root length (cm)	Dry Wt of root (g)	Root to shoot ratio by length	Root to shoot ratio by weight	Moisture retaining capacity (%)
<i>Echantillon</i>	<i>Fréquence des stomates (mm²)</i>	<i>Taille des stomates (µm²)</i>	<i>Epaisseur de la cuticule (µm)</i>	<i>Epaisseur totale de la feuille (µm)</i>	<i>Tissu en palissade sur parenchyme lacuneux (rapport)</i>	<i>Longueur de la racine (cm)</i>	<i>Poids sec de la racine (g)</i>	<i>Rapport longueur racine/pousse</i>	<i>Rapport poids racine/pousse</i>	<i>Capacité de rétention d'humidité (%)</i>
141	873.18	243.00	3.01	147.40	1.27	66.00	6.22	1.12	0.90	61.30
151	616.00	186.00	3.17	149.00	1.51	36.50	2.83	1.96	0.58	70.00
152	498.00	236.00	2.83	135.60	1.43	24.00	1.05	0.80	0.80	66.00
154	562.00	344.00	3.50	140.00	1.79	32.80	3.24	1.70	0.35	65.00
160	844.69	290.26	4.18	150.35	2.50	25.00	2.58	1.00	0.30	65.40
161	597.52	203.03	3.51	145.19	1.42	59.00	12.89	1.25	1.67	63.48
130	640.04	253.00	3.84	128.98	1.26	69.00	11.58	0.43	1.21	60.00
122	713.02	231.00	3.01	151.52	0.88	62.00	8.64	1.06	0.80	61.60

Table IV. Isolated germplasm genotypes showing higher moisture percentage, other yield components and percentage of sprouting and rooting.

Tableau IV. Génotypes de la banque montrant un pourcentage d'humidité, d'autres composés du rendement et des pourcentages de bourgeons et de racines plus élevés.

Accession Number	Mean length of the shoot (cm)	Mean number of primary branches/plant	Mean number of secondary branches	Mean internodal distance (cm)	Mean number of leaves mtr. length	Mean leaf area (sq. cm)	Mean weight of 100 leaves (g)	Mean % of moisture	Mean % of sprouting	Mean % of rooting
<i>Echantillon N°</i>	<i>Longueur moyenne de la pousse (cm)</i>	<i>Nombre moyen de branches primaires/plant</i>	<i>Nombre moyen de branches secondaires</i>	<i>Longueur moyenne des internoeuds (cm)</i>	<i>Nombre moyen de feuilles (m)</i>	<i>Surface moyenne de la feuille (cm²)</i>	<i>Poids moyen pour 100 feuilles (g)</i>	<i>Taux moyen d'humidité (%)</i>	<i>Pourcentage moyen de bourgeonnement</i>	<i>Pourcentage moyen de racinement</i>
203	276.40	18.00		3.68	26	150.48	570.00	78.56	84.20	94.20
204	209.40	16.00		3.85	25	145.38	365.00	75.46	83.40	89.00
142	124.00	35.00	25.00	3.69	28	141.00	366.00	70.40	84.00	89.00
132	99.00	24.00		4.00	26	155.48	540.00	73.60	77.40	95.40
124	134.00	25.00	4.00	3.80	25	145.36	305.00	70.28	88.10	81.50
135	99.00	16.00		3.76	26	129.35	273.00	67.50	80.00	87.00
139	122.06	38.00	5.00	4.56	21	119.00	313.00	69.60	89.10	90.20
116	157.00	18.00	4.00	4.04	23	148.28	480.00	78.70	85.00	80.00
109	86.13	37.00	19.20	4.49	21	116.16	395.00	70.60	95.00	33.00
110	161.29	22.00	12.00	4.81	20	140.13	505.00	70.10	48.00	38.50
108	130.00	21.00	4.23	4.01	22	138.18	430.00	71.95	84.60	79.50

Continued / Suite page suivante

Table IV. Continued / *Tableau IV. Suite*

Accession Number	Mean length of the shoot (cm)	Mean number of primary branches/ plant	Mean number of secondary branches	Mean internodal distance (cm)	Mean number of leaves mtr. length	Mean leaf area (sq. cm)	Mean weight of 100 leaves (g)	Mean % of moisture	Mean % of sprouting	Mean % of rooting
<i>Echantillon N°</i>	<i>Longueur moyenne de la pousse (cm)</i>	<i>Nombre moyen de branches primaires/ plant</i>	<i>Nombre moyen de branches secondaires</i>	<i>Longueur moyenne des inter-noeuds (cm)</i>	<i>Nombre moyen de feuilles (m)</i>	<i>Surface moyenne de la feuille (cm²)</i>	<i>Poids moyen pour 100 feuilles (g)</i>	<i>Taux moyen d'humidité (%)</i>	<i>Pourcentage moyen de bourgeonnement</i>	<i>Pourcentage moyen de racinement</i>
114	113.00	15.00	8.33	3.49	25	121.30	387.00	75.40	52.90	40.30
125	137.00	12.00		4.04	23	120.28	400.00	71.50	80.00	33.50
128	165.00	9.00		3.57	24	145.39	512.00	72.87	30.00	30.00
131	112.00	20.00		5.21	20	150.38	475.00	70.00	17.60	58.80
141	145.00	28.00		4.18	24	140.00	512.00	70.00	78.00	80.00
151	231.30	14.00	30.00	4.08	25	134.11	676.00	74.00	37.68	30.68
152	269.90	13.00		4.05	23	126.10	462.00	68.00	50.90	48.50
154	271.00	15.00		3.71	26	156.91	356.00	71.40	83.40	89.40
160	57.60	5.00		3.64	28	127.58	425.00	70.20	15.40	20.30
161	108.65	24.00		4.33	22	156.91	730.00	73.01	89.30	90.20
130	124.00	40.00		3.45	30	120.18	218.00	64.70	75.50	90.00
122	142.00	14.00		5.50	18	220.25	648.00	68.00	90.00	80.00

Table V. Leaf yield of different mulberry genotypes under stress conditions during 1983-86. Analysis of variance

Tableau V. Rendement en feuilles de divers génotypes de mûriers dans des conditions de stress entre 1983-1986. Analyse de variance

Source Source	df dl	Harvest I Récolte I		Harvest II Récolte II		Harvest III Récolte III		Harvest IV Récolte IV		Harvest V Récolte V	
		MS	F	MS	F	MS	F	MS	F	MS	F
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1983 - 1984											
Replications / Réplicats	3	0.1913		0.0550		0.2485		0.0167		0.0006	
Genotypes / Génotypes	24	2.4924	42.75**	1.3032	110.44**	3.1998	426.64**	1.0675	20.41**	0.0579	981.71**
Blocks (adjusted) Blocks (ajustés)	16	0.0461	0.79NS	0.0074	0.63NS	0.0127	1.69NS	0.0735	1.41NS	0.00005	0.85NS
Error / Erreur	56	0.0583		0.0118		0.0075		0.0523		0.000059	
Total	99										
L.S.D. at 5% Ecart type limite à 5 %			0.170		0.076		0.062		0.163		0.005
1984-1985											
Replications / Réplicats	3	0.0009		2.3125		0.1755		0.8795		0.02604	
Genotypes / Génotypes	24	0.8263	61.21**	1.1351	3.94**	3.2538	4.81**	1.14243	3.49**	0.09857	6.37**
Blocks (adjusted) Blocks (ajustés)	16	0.0157	1.16NS	0.3428	1.19NS	0.5882	0.87NS	0.15392	0.47NS	0.019505	1.26NS
Error / Erreur	56	0.0135		0.2882		0.6766		0.32772		0.01548	
Total	99										
L.S.D. at 5% Ecart type limite à 5 %			0.082		0.381		0.580		0.399		0.089

Continued / Suite page suivante

Table V. Continued / *Tableau V. Suite*

Source <i>Source</i>	df <i>dl</i>	Harvest I <i>Récolte I</i>		Harvest II <i>Récolte II</i>		Harvest III <i>Récolte III</i>		Harvest IV <i>Récolte IV</i>		Harvest V <i>Récolte V</i>	
		MS	F	MS	F	MS	F	MS	F	MS	F
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1985-1986											
Replications / <i>Réplicats</i>	3	0.0202		0.0385		0.6534		0.6944		0.0042	
Genotypes / <i>Génotypes</i>	24	2.2497	14.67**	3.7927	74.37**	4.7899	9.69**	1.8767	1.57**	0.1671	75.92**
Blocks (adjusted) <i>Blocks (ajustés)</i>	16	0.0512	0.33NS	0.0813	1.59NS	0.7599	1.54NS	0.1733	0.42NS	0.0020	0.91NS
Error / <i>Erreur</i>	56	0.1534		0.0510		0.4945		0.4110		0.0022	
Total	99										
L.S.D. at 5% <i>Ecart type limite à 5 %</i>			0.270		0.162		0.504		0.437		0.033

*p < 0.05 ; ** p < 0.01

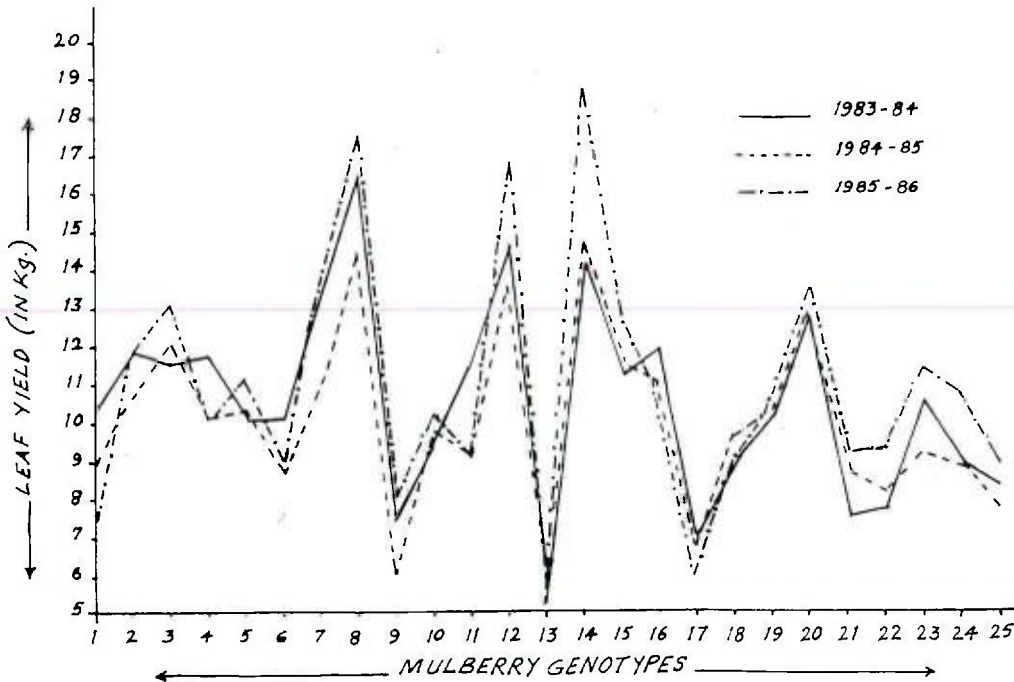
NS : not significant / *Non significatif*.

Table VI. Mean leaf yield of 23 germplasm genotypes of mulberry in comparison with check cultivars during the years 1983-84, 1984-85 and 1985-86 cultivated under stress condition.

Tableau VI. Rendement moyen en feuilles de 23 génotypes de la banque génétique de mûriers comparés à des cultivars cultivés dans des conditions de stress pendant les années 1983-84, 1984-85 et 1985-86.

Name of the genotypes Nom des génotypes		Leaf yield (kg) during Rendement en feuilles (kg)			Mean of 3 years (kg) Moyenne des 3 années (kg)
		1983-1984	1984-1985	1985-1986	
1	ACC-116	10.297	8.984	7.099	8.79
2	ACC-124	11.846	10.780	11.992	11.54
3	ACC-130	11.601	12.110	13.237	12.32
4	ACC-132	11.835	10.259	10.004	10.70
5	ACC-139	10.110	10.426	11.189	10.58
6	ACC-203	10.141	8.790	8.937	9.29
7	ACC-141	13.439	11.097	13.646	12.73
8	ACC-142	16.799	14.629	17.757	16.40
9	ACC-154	7.384	5.900	7.818	7.03
10	ACC-122	9.665	9.831	10.133	9.88
11	ACC-108	11.813	9.335	9.047	10.07
12	ACC-204	14.851	13.935	16.829	15.21
13	ACC-151	6.360	5.991	5.293	5.88
14	ACC-109	14.327	14.968	18.972	16.09
15	ACC-152	11.206	11.463	12.781	11.82
16	ACC-160	11.999	11.094	10.957	11.35
17	ACC-161	6.909	6.736	5.811	6.49
18	ACC-125	9.072	9.774	8.967	9.27
19	ACC-128	10.168	10.168	10.394	10.24
20	ACC-110	12.902	12.838	13.527	13.09
21	ACC-135	7.465	8.679	9.182	8.44
22	ACC-131	7.707	8.076	10.366	8.72
23	ACC-114	10.571	9.197	11.476	10.41
24	Kanva-2	8.858	8.929	10.722	9.50
25	Local	8.232	7.850	9.894	8.66

mulberry germplasm genotypes show considerable range of variability with respect to all traits linked with drought resistance/avoidance. The yield of mulberry variety is assessed by the quantity of leaves harvested. Therefore, an attempt has been made to evaluate the quantitative characters which have a bearing on leaf yield. Water content of excised leaves was proposed as an index in screening for drought resistance by Dedio (1975). Therefore, the moisture content or water content of excised leaves was taken as a selection criterium. The genotypes having leaves with smaller stomatal size, extensive deep root system are effective in reducing the water loss as well as maintaining water potentials and genotypes which were earlier isolated based on extensive deep root system yielded better in yield trial under stress condition. Similar observations have been made by Hurd (1968) in wheat cultivars. The



MULBERRY GENOTYPES
REPRESENTED ON
HORIZONTAL LINE

NO. GENOTYPES

1. ACC 116
2. ACC 124
3. ACC 130
4. ACC 132
5. ACC 139
6. ACC 203
7. ACC 141
8. ACC 142
9. ACC 134
10. ACC 122
11. ACC 108
12. ACC 204
13. ACC 151
14. ACC 109
15. ACC 152
16. ACC 160
17. ACC 161
18. ACC 125
19. ACC 128
20. ACC 110
21. ACC 135
22. ACC 131
23. ACC 114
24. KANVA - 2
25. LOCAL

Fig. 1 : Variation in the leaf yield of different genotypes cultivated under stress condition during 1983-84, 1984-85 and 1985-86.

Fig. 1 : Variation du rendement en feuilles de différents génotypes cultivés dans des conditions de stress au cours des années 1983-84, 1984-85 et 1985-86.

B. N. SUSHEELAMMA

germplasm genotypes which were having a higher number of primary and secondary branches per plant, a higher number of leaves per meter length of the shoot and a higher moisture content of the leaves yielded better than other genotypes in yield trial experiment under stress condition. This study is in confirmation with the earlier findings of Susheelamma *et al.*, (1988) in mulberry.

The stress resistance/tolerance was measured directly by giving importance to yield under stress conditions. The competitive advantage for one genotype over another was greater in yielding ability under moisture stress conditions in mulberry. Similar observations have been made by Donald (1963) in pasture plants. Twenty-three germplasm of mulberry genotypes which were studied for their yielding ability and general dry land adaptation with check cultivars, varied in their yielding ability (fig. 1) (Table VI). Variation was highly significant among different cultivars (Table V) under moisture stress conditions. Similar studies have been made by Keim and Kronstad (1979) in winter wheat cultivars, in which they reported that winter wheat cultivars varied in their yielding ability and general dry land adaptation.

Out of 23 germplasm genotypes evaluated for leaf yield under stress condition, ACC-142 gave a leaf yield of 16.80 kgs, 14.63 kgs, and 17.76 kgs during the years 1983-84, 1984-85 and 1985-86 respectively. ACC-109 gave a leaf yield of 14.33 kgs, 14.97 and 18.97 kgs during 1983-84, 1984-85 and 1985-86 respectively. The check cultivars such as Local and Kanva-2 yielded 8.23 and 8.86 kgs, 7.85 and 8.93 kgs and 8.89 and 10.72 kgs during 1983-84, 1984-85 and 1985-86 respectively (Refer to Table VI and Fig. 1).

Basing on mean of 3 years leaf yield data ACC-142 and ACC-109 (Table VI) were considered to be the best yielding genotypes. Gill *et al.*, (1982) have made similar observations in forage crops. ACC-142 and ACC-109 which yielded maximum under dry condition are stress resistant : drought resistant genotypes. Resistance to drought is not referred to in terms of physiological mechanisms, but rather as a stability parameter which allows leaf yield to be maintained in spite of natural water stress. This result is in confirmation with the observations of Hurd *et al.*, (1982) in wheat cultivars for drought resistance. To sum up, this study brings out two functional significances. Firstly, it helps to identify genotypes possessing resistance traits to drought or stress and secondly it helps the utilization of isolated genotypes in the breeding programme and to be chosen to grow in water limited environments.

REFERENCES

- AUFHAMMER G., FISCHBECK G., GREBNER H. (1959), Testing drought resistance in spring cereals *Z. Acker-Pflanzenbau*, 110, 117-134.
- BLUM A. (1980), Breeding and selection for adaptation to stress genetic improvement of drought adaptation. *Adaptation of plants to water and high temperature stress.*, ed. by N.C. Turner and P.J. Kramer, p 450-452.
- BOLOTIN M. (1969), Selection for drought resistance in woody species *La-Yaman*, F., 19, 73-76.
- CLARKE J.M., McCAIG T.N. (1982), Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop Sci.*, 22, 503-506.
- DEDIO W. (1975), Water retention in wheat leaves as screening tests for drought resistance. *Can. J. Plant. Sci.*, 55, 369-378.
- DONALD C.M. (1963), Competition among crop and pasture plants. *Adv. Agron.*, 15, 1-114.
- GILL A. S., PATIL B.D., YADAV C.L. (1982), Performance of rainfed oatgenotypes for forage and grain production. *Indian J. Agron.*, 27, 323-325.
- HAGEMAN R.H., LENG C.R., DUDLAY J.W. (1967), A biochemical approach to corn breeding. *Adv. Agron.*, 19, 45-86.
- HANSON A.S. (1972), 'The biology and utilization of grasses' ed. by V. B. Youger and C. M Mckell. Academic Press. N.Y., San francisco- London, p. 36.
- HURD E.A. (1968), Growth of roots of seven varieties of spring wheat at high and low moisture levels. *Agron. J.*, 60, 201-205.
- HURD E.A. (1971), Can we breed for drought resistance ? In 'Drought injury and resistance in crops.' Ed. by K.L. Larson and J.D. Eastin. *Publ.N 2*, p. 77-88. *Crop. Sci. Soc. Amer. Madison, Wisconsin.*

- HURD E.A., PATTERSON L.A., MALLOUGH D., TOWNLEY SMITH T.F., OWN C.H. (1972), Wascana, a new durum wheat. *Can. J. Plant. Sci.*, 52, 687-688.
- HURD E.A. (1976), Plant breeding for drought resistance. In "Water deficits and plant growth". Vol. 4 ed. by T.T. Kozlowski, p. 317-353. Academic, N.Y., London.
- KEIM D.L., KRONSTAD W.E. (1979), Drought resistance and dry land adaptation in winter wheat. *Crop. Sci.*, 19, 574-576.
- LEVITT J. (1964), Drought in forage plant physiology and soil range relationship. Ed. by W. Kener et al, *Am. Soc. Agron. Spec. Publ.*, 5, 57-66.
- LEVITT J. (1972), Responses of plants to environmental stresses, p. 697, Academic, New York, London.
- MAMAEVA Z. G. (1970), Water retaining capacity of the leaves of apple cultivars in wilting. *Rec Wk. Post orad- Jun Sci. All. Un. Sci-Res. Inst. Pl. Industr.*, 15, 474-477. (Ru)
- NAGARAJAH S. (1979), Differences in cultivar resistance in relation to transpiration in tea (*Camellia sinensis*). *Physiol. Plant.*, 46, 89-92.
- ORSHAN G. (1972), Morphological and physiological plasticity in relation to drought. In wild land shrubs their biology and utilization. Ed. by C. M. McKeller, J. P. Blaisden and J. R. Goodins. p. 245-254. 4/5 Dept. Agric. Forest Serv. V. gden. Utah.
- SEN D.N. (1982), Environment and plant life in Indian desert. *Geobio. International*, Jodhpur, India.
- SLAYTER R.O. (1964), Efficiency of water utilization by arid zone vegetation. *Ann. Arid. Zone.*, 3, 1-12.
- STOCKER O. (1961), Contributions to the problem of drought resistance of plants. *Indian J. Plant. Physiol.*, 4, 87-102.
- SUSHEELAMMA B. N., JOLLY M.S. (1986), Evaluation of morpho-physiological parameters associated with drought resistance in mulberry. *Indian J. Seric.*, 25, 6-14.
- SUSHEELAMMA B.N., JOLLY M. S., KSHAMA GIRIDHAR, DWIVEDI N.K., SURYANARAYANA N. (1988), Correlation and path analysis in mulberry under stress and non-stress conditions. *Sericologia*, 28(2), 239-243.

EVALUATION DE GENOTYPES DE MURIERS EN FONCTION DE LEUR RESISTANCE A LA SECHERESSE

B.N. SUSHEELAMMA, M.S. JOLLY, K. GIRIDHAR & K. SENGUPTA

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

Les caractères morpho-physiologiques, à savoir : la fréquence et la taille des stomates, l'épaisseur de la feuille, l'épaisseur de la cuticule, la proportion du tissu palissadique par rapport au parenchyme lacuneux, la capacité de rétention de l'humidité, la longueur et le poids sec de la racine, le rapport racine sur tige en fonction de la longueur et du poids ainsi que 10 composants du rendement (le nombre de ramifications primaires et secondaires par plant, la longueur de la tige, la distance internodale, le nombre de feuilles par mètre de tige, la surface foliaire, le pourcentage d'humidité et le pourcentage de bourgeonnement et de racinement) ont été évalués pour quatre-vingt douze génotypes. Les génotypes sont répartis, sur la base des résultats de l'évaluation, en trois classes : basse fréquence, moyenne fréquence et haute fréquence. Une importante variabilité a pu être observée chez tous les génotypes évalués. Enfin, on a pu sélectionner 23 génotypes sur la base des composés du rendement et des caractères morphologiques, anatomiques et physiologiques de la résistance à la sécheresse. On a également comparé le rendement en feuilles dans des conditions naturelles entre ces génotypes et des cultivars témoins. De ces 23 génotypes, ACC-142 et ACC-109 donnent le rendement maximum. ACC-142 et ACC-109 sont donc considérés comme des génotypes résistants à la sécheresse.

INTRODUCTION

Les réactions des plantes au stress du manque d'eau se regroupent en deux catégories, ainsi que le suggère Levitt (1972). L'une est l'évitement de la sécheresse qui consiste, pour la plante, à différer la déshydratation et l'autre est la tolérance à la sécheresse qui donne à la plante la capacité de survivre à la déshydratation. La résistance à la sécheresse des plantes s'acquière par divers mécanismes d'adaptation.

La génétique de la résistance à la sécheresse chez les cultures obtenues par pollinisation est gouvernée par l'hérédité quantitative. Lorsque les caractères de résistance à la sécheresse seront identifiés au moyen des paramètres morpho-physiologiques, il deviendra possible de créer des populations combinant plusieurs de ces caractères (Hurd, 1976). L'un des aspects les plus importants dont il faut tenir compte dans un programme de culture de variétés résistant à la sécheresse est la potentialité des parents. La mesure de la résistance à la sécheresse et du stress dû à la sécheresse ont constitué un obstacle majeur dans l'identification des plantes résistantes (Levitt, 1964).

L'adaptation à la tolérance à la sécheresse, qui comprend la tolérance à la déshydratation, serait tout à fait profitable aux plants de mûrier pour lesquels la production de feuilles est d'une importance capitale. L'adaptation à la tolérance à la déshydratation permet une croissance maximale des feuilles à un potentiel d'eau donné chez une grande variété de plantes. Hanson (1972) a mis en évidence l'importance de la diversification des réserves des banques génétiques qui permet d'augmenter la diversité génétique en vue de la sélection et de l'amélioration de la fréquence des gènes afin de disposer de caractéristiques potentiellement intéressantes. Si l'on veut utiliser de manière efficace les ressources génétiques, il est nécessaire de les classer de façon appropriée et de les évaluer. On a

observé une différence pour la résistance cuticulaire à la perte en eau chez les feuilles détachées de différents clones de *Camellia sinensis* (Nagarajah, 1979). La résistance à la sécheresse a souvent été associée avec un contenu élevé en eau ou une capacité élevée de rétention de l'eau (Mamaeva, 1970). Il a été suggéré d'utiliser le contenu en eau et la rétention de l'eau des feuilles coupées comme indices de sélection pour la résistance à la sécheresse (Dedio, 1975 ; Clarke et McCaig, 1982).

Chez le mûrier, l'extension du système des racines donne une corrélation positive avec la capacité de rétention de l'humidité des feuilles (Susheelamma et Jolly, 1986).

On a avancé que certains caractères morphologiques comme une cuticule épaisse, des stomates de petite taille, une augmentation des tissus palissadiques, une réduction du nombre et de la taille des feuilles, constituaient une adaptation efficace à la sécheresse occasionnelle ou périodique (Slayter, 1964 ; Orshan, 1972 ; Sen, 1982).

La constitution anatomique, morphologique et physiologique d'un cultivar résistant pourrait lui permettre de conserver une activité photosynthétique élevée en cas de stress en limitant la perte en eau par transpiration (Stocker, 1961). Dix caractères morpho-physiologiques ont donc été retenus chez le mûrier pour définir les génotypes de la banque résistant à la sécheresse.

Le test final de résistance au stress est le test du rendement dans la mûraie dans les conditions types de sécheresse (Aufhammer et coll., 1959 ; Hageman et coll., 1967 ; Hurd, 1971). Hurd (1976) a suggéré qu'après l'identification des caractères résistant à la sécheresse chez différents génotypes, ces derniers devraient être cultivés dans des conditions stressantes de sécheresse et sélectionnés sur la base de la variété la plus performante. Depuis quelques années, ceci est attesté par de nombreux travaux, ce qui indique qu'il existe une variation génétique dans les divers composants de la résistance à la sécheresse à l'intérieur d'une même espèce de plante cultivée (Blum, 1980). La résistance à la sécheresse chez les espèces ligneuses est contrôlée de manière polygénétique et s'exprime de façon phénotypique par adaptation morphologique et physiologique (Bolotin, 1969). Dans la présente étude, 92 spécimens de la banque, comprenant 8 variétés réimplantées, 38 variétés exotiques introduites et 46 races locales ont été analysées en fonction de 10 traits morphologiques qui contribuent à l'évitement et/ou à la résistance à la sécheresse et en fonction de 10 composants du rendement en feuilles.

MATERIELS ET METHODES

Pour l'étude des stomates, les 5ème, 6ème et 7ème feuilles à partir de l'extrémité supérieure des pousses âgées de trois mois de tous les échantillons sont prélevées à 9 h 00 dans un becher rempli d'eau. Un film adhésif mince est ensuite appliqué à la surface inférieure de la feuille. Les empreintes des stomates sont ensuite recueillies et la fréquence déterminée. Vingt champs microscopiques sont observés pour chaque échantillon. La fréquence des stomates par mètre carré est déterminée. La longueur et la largeur moyennes de la cellule stomatique sont déterminées à partir de 20 mesures pour les trois feuilles en vue de l'estimation finale. Pour l'épaisseur de la feuille et de la cuticule, des coupes manuelles des feuilles tendres, moyennes et mûres sont réalisées.

Les coupes sont colorées avec de la safranine à 1 % et montées dans de la glycérine à 50 %. L'épaisseur de la feuille et de la cuticule, le tissu palissadique et le parenchyme spongieux sont mesurés (en μm). Pour tous les échantillons, on effectue un minimum de 10 lectures, puis on fait la moyenne. Pour déterminer la capacité de rétention de l'eau, 100 feuilles des différents groupes d'âge sont prélevées et conservées dans des récipients ouverts à température du laboratoire pendant 24 heures puis le poids (en mg) est relevé. De plus, les feuilles sont complètement séchées à 80°C pendant 48 heures au four et le poids (m_d) est noté. La capacité de rétention de l'humidité (M_{rc}) est déterminée à partir de la formule suivante :

$$M_{rc} = \frac{m_g - m_d}{m_g} \times 100$$

Pour l'étude de la propagation des racines, des boutures identiques provenant des tiges mûres de tous les échantillons sont plantées dans des pots en terre d'une dimension de 65 × 40 × 40 cm

(hauteur × profondeur × largeur) pendant une durée de trois mois. Ils sont arrosés tous les huit jours. Après trois mois, on déracine les jeunes plants sans causer de dommage au système racinaire. Les racines sont entièrement lavées et la longueur de la tige et des racines est mesurée à l'aide d'un mètre. Les poids frais des racines et de la tige sont relevés au moyen de la balance à chargement par le haut de Shimadzu puis notés. Elles sont ensuite séchées au four pendant 48 heures à 80°C. Après vérification du séchage, les poids des racines et de la tige sont relevés séparément. Les rapports racine/tige pour la longueur et pour le poids sont calculés.

Neuf plants de la banque sont conservés dans chacun des génotypes dans des conditions identiques. Les plants des 92 échantillons sont taillés en juin et mis en terre. Les observations sont effectuées soixante jours après la taille (c'est-à-dire en août, pendant la saison des pluies). Les composants du rendement pour chacune des deux saisons suivantes (décembre-hiver, avril-été) sont relevés afin d'établir la fréquence de classe. Pour déterminer la distance internodale, on compte le nombre de nœuds présents sur chaque tige qu'on divise ensuite par la longueur de la tige. La distance internodale moyenne des neuf plants est calculée. Cent feuilles sont prélevées au hasard sur les parties supérieure, médiane et inférieure de la tige à 9 h 00 dans un sac en polyéthylène, le poids de ces feuilles est calculé à l'aide de la balance à chargement par le haut de Shimadzu. Le poids frais (M_1) est également relevé au moyen de la balance à chargement par le haut de Shimadzu. Les feuilles sont ensuite séchées au four à 80°C pendant 48 heures. Le poids sec (m_d) des feuilles est enregistré. Le contenu en humidité (m_c) est calculé à partir de la formule suivante :

$$M_c = \frac{M_1 - m_d}{m_1} \times 100$$

Cent boutures, préparées à partir de pousses âgées de dix mois, sont prélevées sur tous les échantillons et plantées dans des litiers en pépinière afin de déterminer le pourcentage de bourgeonnement et de racinement. Après 20 jours de mise en pot, le pourcentage de bourgeonnement est relevé puis, après trois mois, le pourcentage de racinement est calculé sur la base du taux de survie. Pour l'évaluation finale des génotypes de mûriers sélectionnés pour leur résistance à la sécheresse, une expérience est mise au point dans la mûraie. Le schéma adopté consiste en une configuration en treillis de 5 × 5. On prépare des alvéoles de 45 × 45 × 45 cm (longueur × largeur × hauteur) que l'on remplit de fumier, de sable et de terreau dans un rapport de 1:1:1. Des plançons de six mois sont plantés dans les alvéoles. Chaque réplicat comprend 25 micro-parcelles. Vingt-trois génotypes de la banque et deux cultivars témoins (local et Kanva-2) sont plantés dans des conditions de stress naturel (absence d'irrigation). Quatre réplicats sont plantés avec les plançons de lisière pour éliminer l'effet de bordure. Le rendement en feuilles est relevé en récoltant toutes les feuilles de chacun des réplicats séparément et en notant le poids au moyen d'une balance à plateau supérieur Weighbird d'une capacité de 10 kg. Le rendement en feuille est enregistré pour les trois ans, c'est-à-dire 1983-84, 1984-85 et 1985-86 en effectuant la récolte cinq fois par an et est ensuite traité suivant l'analyse de variance. Les données concernant les précipitations pour les périodes correspondantes sont relevées. L'irrigation n'est pas assurée sur les parcelles expérimentales.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données d'évaluation de dix caractéristiques morpho-physiologiques, à savoir, la fréquence et la taille des stomates, l'épaisseur de la feuille, l'épaisseur de la cuticule, le rapport tissu en palissade sur parenchyme spongieux, la capacité de rétention de l'humidité, la longueur de la racine, le poids sec de la racine, les rapports racine/tige pour la longueur et pour le poids, et de dix composants du rendement ont permis de regrouper les génotypes en trois groupes de fréquences : faibles, moyennes et élevées. Les résultats de chacun des groupes sont présentés aux tableaux I et II suivant la fréquence des échantillons. Ceux qui présentent une capacité de rétention de l'humidité et d'autres traits morphologiques et anatomiques les meilleurs apparaissent au tableau III. Les échantillons qui présentent une capacité plus forte pour la rétention de l'humidité, le bourgeonnement, le racinement et pour d'autres composants du rendement sont donnés au tableau IV. La comparaison sur trois ans

du rendement en feuilles chez vingt-trois génotypes de la banque avec celui de deux cultivars témoins (local et Kanva-2) est décrite à la figure 1. L'analyse de variance des données sur le rendement en feuilles pour les trois ans est donnée au tableau V. Dans la présente étude, les échantillons 109, 110, 116, 122, 125, 130, 132, 139, 141, 142, 161, 203, 204, 108, 151, 160, 128, 135, 131, 124, 154 et 114 sont sélectionnés sur la base des traits morphologiques, anatomiques et physiologiques (tableau III) et des composants du rendement (tableau IV). Enfin, on évalue leur rendement en feuilles dans des conditions de stress. On observe que les échantillons 109, 110, 116, 122, 125, 130, 132, 139, 141, 161, 203 et 204 disposent d'un système racinaire profond et étendu et de la plus forte capacité de rétention d'eau des feuilles (tableau III). D'après cette étude, on remarque que les génotypes de la banque de mûriers manifestent une grande variabilité pour toutes les caractéristiques liées à la résistance et/ou à l'évitement de la sécheresse. Le rendement d'une variété de mûrier donnée est évaluée en fonction de la quantité de feuilles récoltées. Nous avons donc tenté d'évaluer les caractères quantitatifs qui affectent le rendement en feuilles. On a suggéré d'utiliser le contenu en eau des feuilles coupées comme indice de sélection pour la résistance à la sécheresse (Dedio, 1975). Aussi avons-nous choisi le contenu en humidité ou en eau des feuilles coupées comme critère de sélection. Les génotypes dont les feuilles ont des stomates de petite taille et qui ont un système racinaire étendu parviennent à diminuer la perte en eau de manière efficace et à maintenir les potentiels aqueux. De même, les génotypes qui ont été sélectionnés préalablement en raison de leur système racinaire étendu et profond donnent un meilleur rendement au cours de l'expérience dans des conditions de stress. Des observations similaires ont été faites par Hurd (1968) pour les cultivars de blé. Les génotypes de la banque présentant un nombre plus élevé de ramifications primaires et secondaires par plant, un nombre plus élevé de feuilles par mètre de tige et un contenu des feuilles en humidité plus élevé donnent un meilleur rendement que les autres génotypes au cours de l'expérience dans des conditions de stress. Cette étude confirme les résultats antérieurs de Susheelamma et coll. (1988) sur le mûrier.

La tolérance et la résistance à la sécheresse sont mesurées directement en donnant la priorité au rendement dans des conditions de stress. Les avantages comparatifs d'un génotype sur un autre sont fonction de la capacité de rendement dans des conditions de stress. Des observations similaires ont été faites par Donald (1963) pour les plantes herbacées. Les vingt-trois génotypes de mûriers de la banque qui ont été comparés aux cultivars témoins divergent quant à leur capacité de rendement (Fig. 1, tableau VI). La variation est tout à fait significative entre les différents cultivars (tableau V) dans des conditions de privation d'eau. Des études similaires ont été faites par Keim et Kronstad (1979) sur des cultivars de blé d'hiver chez lesquels ils ont observé une variation de la capacité de rendement et de l'adaptabilité en terre sèche.

Des vingt-trois génotypes évalués pour le rendement en feuilles dans des conditions de stress, ACC-142 donne un rendement en feuilles de 16,80 kg, 14,63 kg et 17,76 kg pour les années 1983-84, 1984-85 et 1985-86 respectivement. Les cultivars témoins, local et Kanva-2, produisent 8,23 et 8,86 kg, 7,85 et 8,93 kg et 8,89 et 10,72 kg pour les années 1983-84, 1984-85, 1985-86 respectivement (voir tableau VI et Fig. 1).

La moyenne des données du rendement en feuilles sur les trois années permet de considérer qu'ACC-142 et ACC-109 (tableau VI) sont les génotypes ayant le meilleur rendement. Gill et coll. (1982) ont fait des observations similaires sur les cultures de fourrage. ACC-142 et ACC-109 qui donnent le rendement maximum dans des conditions de sécheresse sont des génotypes résistant au stress et/ou à la sécheresse. La résistance à la sécheresse n'est pas évaluée en termes de mécanisme physiologique, mais plutôt comme un paramètre de stabilité qui permet de conserver le rendement en feuilles en dépit du stress naturel du manque d'eau. Ces résultats confirment les observations de Hurd et coll. (1982) sur les cultivars de blé pour la résistance à la sécheresse. En résumé, cette étude met en évidence deux choses : premièrement, elle permet d'identifier les génotypes disposant de caractéristiques de résistance à la sécheresse ; deuxièmement, elle facilite la sélection de génotypes dans le programme de culture et leur utilisation dans un environnement aride.

SCREENING OF MULBERRY VARIETIES FOR ROOTING AND INDUCTION OF ROOTING BY THE USE OF GROWTH REGULATORS

R.K. FOTADAR, M.M. AHSAN, K.L. DHAR & A. DHAR.

Regional Sericultural Research Station, Pampore 192 121, Kashmir, India.

An experiment, on the screening of six promising mulberry varieties for rooting and induction of rooting in hardwood cuttings by the use of three growth regulators, viz. indole butyric acid, indole acetic acid and naphthalene acetic acid, in two concentrations of 50 ppm and 100 ppm each, was conducted at Regional Sericultural Research Station - Pampore, Kashmir, India- during 1984-86. The mulberry varieties involved in the experiment were Goshorami, Rokokuyaso, Kairyonezumigaeshi, Ichinose, Chinese White and Kokuso-27.

Amongst the varieties screened for rooting behaviour under the temperate conditions of Kashmir, Chinese White gave significant results over Goshorami, which is at present a widely cultivated variety in Kashmir. Because of good rootability and short gestation period, Chinese White has been found as the most suited variety for temperate conditions. This variety is suggested to be released to the field for commercial exploitation. As regards the effect of different hormonal treatments, it was found that 100 ppm indole butyric acid proved to be an effective treatment in inducing rooting in mulberry varieties which otherwise were having prepotency for rooting. The varieties which have less prepotency showed less expression on rooting even with the use of any of the growth regulators. An interaction between hormones and varieties ($H \times V$) revealed that the application of 100 ppm indole butyric acid improved rooting in Goshorami, Rokokuyaso, Kairyonezumigaeshi, Ichinose and Kokuso-27 ; whereas indole acetic acid proved effective on Chinese White only. Naphthalene acetic acid was found to be the least effective.

Keywords : Rooting, mulberry varieties, growth regulators, Chinese White.

INTRODUCTION

Mulberry in Kashmir is mostly propagated through the conventional grafting method using foreign varieties as scion and the indigenous mulberry as rootstock. This method has many disadvantages, involving a lot of skilled labour at a high economic cost. Moreover, conventional grafting involves 4-5 years for their preparation in the nursery to the transplanting site in the field. However, difficulty is often experienced in the propagation of some Japanese varieties, viz. Goshorami, Ichinose, Kairyonezumigaeshi and Kokuso-27, which have otherwise adopted themselves and gained popularity amongst the sericulturists in Kashmir. It is very convenient in case the varieties can be made to propagate by cutting as the rooted cuttings make the leaf available within a period of two years. Moreover, the importance of vegetative or clonal propagation to preserve type characteristics need not be emphasized (Mahlstedt and Haber, 1957 ; Krishnaswamy and Chandrasekharan, 1960). With these facts in view a few promising varieties were evaluated for their rooting behaviour so as to recommend the most suited variety for commercial exploitation. Besides, the feasibility of different hormonal treatments to induce the rooting in these varieties was worked out.

The use of hormones has a particular advantage in propagation of the Japanese mulberry varieties, as an acceptable percentage of success in vegetative propagation without the aid of rooting hormones has not been possible in all the varieties. However, the fact should not be lost sight of that the rooting hormone could only be used with advantage if there is prepotency for rooting in the plant material to be handled. The role of hormone at best could be as an accelerating mechanism to act on the root primordia (Mahlstede and Haber, 1957 ; Tukey, 1954). With material normally refractory to rooting response, the hormonal treatments might prove to be uneconomical. Many workers have reported the importance of plant growth regulators on the rooting of mulberry cuttings. An experiment on the induction of rooting in a few Japanese mulberry varieties by the use of growth substances, viz. indole butyric acid, indole acetic acid, rootone and seradix indicated positive results, especially with one of the varieties (Prahallada, 1960). Experiments were conducted to study the effect of indole butyric acid and naphthalene acetic acid on the rooting of mulberry cuttings of the two varieties under intermittent mist and the results indicated a high percentage of rooting with the application of indole butyric acid and naphthalene acetic acid in the variety Kanva-2. In the other variety, indole butyric acid recorded maximum survival as compared to naphthalene acetic acid and control in all the three types of cuttings employed (Shammugavelu, 1975). Studies on the propagation of hardwood cuttings in Japan revealed that amongst the chemicals of auxin group, naphthalene acetic acid and indole butyric acid had the maximum influence on root initiation followed by indole acetic acid (Tsuneo Honda, 1970). Previous field plot experiments at Central Sericultural Research Station - Berhampore, India- (1961-63) have indicated a root stimulating effect of seradix, naphthalene acetic acid and indole acetic acid on cuttings of local mulberry (*M. alba*) while their effect on Japanese varieties had less expression. Mukherjee and Sharma (1971) reported an optimum effect in rooting by indole acetic acid in the Japanese variety Kosen. As such, an investigation was taken up to study the effect of different concentrations of some growth regulators on a few promising varieties of mulberry and their interaction under the agroclimatic conditions of Kashmir, India. In these experiments, as far as possible, techniques of experimentation have been planned without recourse to special cuttings media and the like, with a view to translating the results under actual field conditions. The only factor taken into consideration was that the cuttings were covered with polythene sheets for a period of one month in order to create a humid atmosphere around and increase the soil temperature.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was laid out in a split plot design with three replications on a clayey loam soil. Soil, sand and farm yard manure in the ratio of 3:2:1 was uniformly added to the nursery beds. The nursery beds were prepared of the size of 50 × 400 cm and raised slightly above the ground level. In all 18 plots were prepared to accommodate six varieties in three replications (6 × 3). Each plot was further divided into seven sub-plots/subunits to accommodate seven hormonal treatments for each variety (18 × 7) and finally 126 sub-plots/subunits (3 × 6 × 7) were prepared. All the treatments, viz. varieties and hormones were randomised in the field. Hundred cuttings were planted in each subplot and each treatment was subjected on three hundred cuttings in a total of three replications.

Hormones	×	Varieties
H ₁ control		V ₁ Goshorami
H ₂ 50 ppm indole butyric acid (IBA)		V ₂ Rokokuyaso
H ₃ 100 ppm indole butyric acid (IBA)		V ₃ Kairyonezumigaeshi (K.N.G.)
H ₄ 50 ppm 3-indole acetic acid (IAA)		V ₄ Ichinose
H ₅ 100 ppm 3-indole acetic acid (IAA)		
H ₆ 50 ppm naphthalene acetic acid (NAA)		V ₅ Chinese White
H ₇ 100 ppm naphthalene acetic acid (NAA)		V ₆ Kokuso-27

The cuttings of one-year-old vigorously growing matured shoots with 3-4 live buds, were selected for the propagation. The over-mature and tender portions of the branches were avoided for preparation of the cuttings. The cuttings were treated with three hormones in two concentrations of 50 ppm and 100 ppm each by dip solution method as this method has been found to be most effective

(Tsuneo Honda, 1970). The cuttings were left overnight in respective hormonal solution so that the basal end remained dipped up to about 3 cm. In the case of the control, the cuttings were kept overnight in distilled water. The treated cuttings were removed on the next morning and washed with running tap water. The cuttings were planted in the nursery beds on 28th March during all the three years of experimentation. The spacing was maintained at 10 × 20 cm. In order to increase the soil temperature and humidity, beds were covered with polythene sheets. Catkins were removed from the cuttings as catkin formation has been reported to have a significant effect on the growth of the cuttings (Norman, 1952).

Data on the sprouting percentage were recorded at a periodical interval of one month and other growth parameters were recorded when plants entered dormancy (after completion of the growth phase). The survival percentage of the cuttings was recorded and tabulated for all the three years of experimentation and transformed into transformed values (Fisher and Yates, 1967). The inequality of the variance makes a direct analysis of variance inappropriate. Observation on rooting percentage was expected to follow the binomial distribution and hence it was useful to carry out transformation by calculating the angle θ corresponding to the observed value of proportion P , such that angle $Q = \sqrt{P}$. The transformed values were then analysed by the usual procedure of analysis of variance. The sum of squares and the mean square for the various treatments as well as for the replications was calculated in the usual way. The entire analysis (joint analysis) was carried out on the number of subplots, the divisor for each sum of squares depending on the number of subplots of which each of the items which are to be squared is composed, viz. for hormonal treatment the divisor is 18 (replication × varieties) and for varieties the divisor is 27 (hormones × replication). The critical difference and standard error were calculated by the following formula.

$$S.E. = \sqrt{\frac{\text{Mean square error}}{\text{Number of replications}}} \times \sqrt{2}$$

C.D. = S.E. × values of t 5% at particular level of freedom.

The difference which is just significant at a chosen level of significance is called critical difference and was calculated for all the parameters. It is usual to calculate this difference for most of the purposes. The analysis for rooting percentage was carried out on transformed values. The other parameters were analysed on the original mean data as per the analysis of variance for split plot design.

RESULTS AND DISCUSSION

Enormous bud sprouting was noticed in all the varieties after one month of planting (Fig. 1) because of the reserve food material available in the cuttings and subsequently withering of buds was noticed at the point where no more nutrients could be drawn in the roots (Fig. 2). A maximum sprouting was observed in Goshierami, Rokokuyaso and Kokuso-27 with 100 ppm IBA whereas Chinese White responded to IAA. Varieties KNG and Ichinose did not show any response to any of the hormonal treatments as regards bud sprouting. The response of six varieties to rooting and the role of hormones in inducing rooting and their effect on growth parameters is discussed below. The interaction between hormonal treatments and the varieties is also discussed.

Varieties :

Perusal of the data on the sprouting percentage, rooting percentage and other growth parameters of six mulberry varieties (Fig. 3, Table 1) reveals that Chinese White responded very well to rooting through cuttings. The next best was Rokokuyaso. These two varieties gave significantly superior rooting percentages over Goshierami during all the three years of experimentation. A rooting percentage of 62.7 % (52.35 % transformed value) as against 6.85 % (15.17 % transformed value) in Goshierami was obtained without any hormonal treatment when the three-year data for this variety were pooled together. The rooting percentages of 59.27 %, 67.29 % and 61.45 % (49.72, 56.31 and 51.03 % transformed values) were recorded in Chinese White during three consecutive years of

Table I. Showing the responses of six promising varieties for rooting and other growth parameters.

Tableau I. Racinement et autres paramètres de la croissance chez six variétés prometteuses.

Treatments	Rooting percentage				No. of shoots per per plant	Length of shoots per plant in cm	No. of leaves per plant	Height of the plant in cm
	1984	1985	1986	Mean	(pooled)	(pooled)	(pooled)	(pooled)
Traitement	Pourcentage de prise des racines				Nb. de pousses par plant	Longueur des pousses par plant (cm)	Nb. de feuilles par plant	Hauteur du plant (cm)
	1894	1985	1986	Moyenne	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)
Goshocrami (V ₁)	(13.58)	(21.19)	(10.73)	6.85 (15.17)	1.06	96.33	26.18	99.11
Rokokuyaso (V ₂)	(38.04)	(30.30)	(41.26)	35.43 (36.53)	1.09	131.05	52.49	134.24
K.N.G. (V ₃)	(11.43)	(12.26)	(15.05)	5.00 (12.91)	1.01	137.94	54.79	141.46
Ichinose (V ₄)	(13.25)	(5.38)	(22.22)	5.57 (13.61)	1.00	125.46	30.94	134.70
Chinese White (V ₅)	(49.72)	(56.31)	(51.03)	62.70 (52.35)	1.16	185.21	33.14	195.35
Kokuso-27 (V ₆)	(11.99)	(11.26)	(17.20)	5.43 (13.48)	1.02	109.92	28.00	113.53
F test / Test F	*	*	*	*	NS	*	NS	*
C.D. at 5 %	(9.47)	(9.47)	(9.47)	(9.47)	*	45.22	*	47.54

NS : Non significant / *Non significatif.** : Significant at 5 % level / *Significatif au seuil de 5 %.*Values in parentheses indicate transformed values / *Les valeurs entre parenthèses indiquent les valeurs transformées.*

Table II. Showing the effect of different hormones on the rooting and other growth parameters of stem cuttings (pooled data of the six varieties).

Tableau II. Effets des différentes hormones sur le racinement et d'autres paramètres de croissance des boutures des tiges (données réunies des six variétés).

Treatments	Rooting percentage				No. of shoots per plant (pooled)	Length of shoots per plant in cm (pooled)	No. of leaves per plant (pooled)	Height of the plant in cm (pooled)
Traitement	1984	1985	1986	Mean	Nb. de pousses par plant	Longueur des pousses par plant (cm)	Nb. de feuilles par plant	Hauteur du plant (cm)
	1984	1985	1986	Moyenne	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)	(sur les 3 ans)
Control (H ₁)	(21.95)	(26.40)	(22.53)	16.08	1.05	122.13	37.18	127.45
Témoin (H ₁)				(23.63)				
50 ppm IBA (H ₂)	(27.80)	(21.98)	(30.02)	20.05	1.09	139.15	39.83	142.76
				(26.60)				
100 ppm IBA (H ₃)	(29.90)	(28.06)	(33.27)	25.61	1.10	140.85	35.82	144.86
				(30.41)				
50 ppm IAA (H ₄)	(24.37)	(24.31)	(28.29)	18.75	1.05	123.36	37.16	127.80
				(25.66)				
100 ppm IAA (H ₅)	(20.93)	(21.32)	(20.85)	12.88	1.00	130.29	43.54	140.91
				(21.03)				
50 ppm NAA (H ₆)	(19.02)	(19.42)	(26.59)	13.65	1.03	130.94	38.96	133.47
				(21.68)				
100 ppm NAA (H ₇)	(17.02)	(18.00)	(22.18)	10.68	1.00	130.17	30.60	137.55
				(19.07)				
F test / Test F	*	NS	*	*	NS	NS	NS	NS
C.D. at 5 %	4.27	4.27	4.27	4.27	-	-	-	-

NS : Non significant / Non significatif.

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

Values in parentheses indicate transformed values / Les valeurs entre parenthèses indiquent les valeurs transformées.

Table III. Showing the interaction between hormones and varieties ($H \times V$) as regards the rooting percentage (transformed values) of stem cuttings.

Tableau III. Interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) concernant le pourcentage de racinement (valeurs transformées) des boutures de tiges.

Treatment <i>Traitement</i>	Goshoerami (V ₁)	Rokokuyaso (V ₂)	K.N.G. (V ₃)	Ichinose (V ₄)	Chinese White (V ₅)	Kokuso-27 (V ₆)
Control / <i>Témoin</i> (H ₁)	15.96	35.48	12.38	12.71	52.80	12.45
50 ppm IBA (H ₂)	12.28	39.45	15.51	17.10	56.46	18.80
100 ppm IBA (H ₃)	23.89	52.45	18.94	21.63	48.21	17.35
50 ppm IAA (H ₄)	14.87	38.03	12.63	12.56	60.81	15.05
100 ppm IAA (H ₅)	18.92	21.53	9.66	6.53	54.86	14.71
50 ppm NAA (H ₆)	9.22	36.87	10.45	13.87	49.51	10.15
100 ppm NAA (H ₇)	11.01	31.94	10.83	10.93	43.83	5.89
F test / <i>Test F</i>	*	*	*	*	*	*
C.D. at 5 %	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30

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

Table IV. Showing the interaction between hormones and varieties ($H \times V$) as regards the number of shoots/plant.Tableau IV. Interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) concernant le nombre de pousses par plant.

Treatment <i>Traitement</i>	Goshoerami (V ₁)	Rokokuyaso (V ₂)	K.N.G. (V ₃)	Ichinose (V ₄)	Chinese White (V ₅)	Kokuso-27 (V ₆)
Control / <i>Témoin</i> (H ₁)	1.00	1.04	1.04	1.00	1.09	1.17
50 ppm IBA (H ₂)	1.00	1.09	1.06	1.09	1.29	1.03
100 ppm IBA (H ₃)	1.11	1.03	1.10	1.11	1.13	1.14
50 ppm IAA (H ₄)	1.08	1.13	1.17	1.00	1.24	1.04
100 ppm IAA (H ₅)	1.05	1.10	1.00	1.00	1.29	1.02
50 ppm NAA (H ₆)	1.08	1.24	1.00	1.04	1.09	1.00
100 ppm NAA (H ₇)	1.00	1.01	1.00	1.00	1.17	1.00
F test / <i>Test F</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : Non significant / *Non significatif*.

Table V. Showing the interaction between hormones and varieties ($H \times V$) as regards the length of the shoots.Tableau V. Interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) pour la longueur des pousses.

Treatment <i>Traitement</i>	Goshoerami (V1)	Rokokuyaso (V2)	K.N.G. (V3)	Ichinose (V4)	Chinese White (V5)	Kokuso-27 (V6)
Control / <i>Témoin</i> (H ₁)	88.50	114.41	129.91	124.25	189.30	86.36
50 ppm IBA (H ₂)	111.55	130.94	139.48	134.45	193.93	124.57
100 ppm IBA (H ₃)	102.77	132.27	135.58	140.30	193.83	140.36
50 ppm IAA (H ₄)	98.94	123.13	183.10	79.23	174.79	80.94
100 ppm IAA (H ₅)	104.17	154.71	126.55	74.75	187.85	133.74
50 ppm NAA (H ₆)	92.45	130.55	147.39	140.47	186.80	87.95
100 ppm NAA (H ₇)	75.87	131.35	103.58	184.76	169.96	115.50
F test / <i>Test F</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : Non significant / *Non significatif*.

experimentation respectively. Rooting percentage of over 60 % can be considered as encouraging under the conditions where most of the Japanese mulberry varieties show much less expression in rooting. This is in conformity with the findings of Prahlada (1963) who reported that K.N.G., which was one of the varieties under present study, failed to respond to hormonal treatments as well. There was significant difference among the varieties in different growth parameters. A maximum height of 195.35 cm was recorded in the variety, Chinese White, as against 99.11 in Goshierami. A higher number of shoots was also recorded in the variety, Chinese White, while a maximum number of 54.71 leaves was recorded in the variety K.N.G. as against 33.14 in Chinese White (Table I). The reason can be attributed to the fact that the internodal distance in K.N.G. is much shorter than in Chinese White. Because of the good rootability, it is suggested that this variety should be released to the field for field exploitation. Moreover, this variety makes the leaf available for commercial silk worm rearing within a period of two years when the variety is trained as bush plantation (Fig. 4).

Hormones :

A perusal of the pooled data of the six varieties showed 30.41 % rooting with the application of 100 ppm I.B.A. as against 23.63 % in the control, which is statistically significant. The rooting percentage of 29.90 %, 28.06 % and 33.27 % respectively was recorded during the three consecutive years of experimentation. During the first and third years, a significant difference in rooting was observed with the application of I.B.A. but no significant difference was recorded during the second year. However, maximum rooting was recorded with the application of I.B.A. during the second year as well. Even though the application of 100 ppm I.B.A. improved the rooting significantly, the results had less expression. The present results are, however, contrary to the findings of Honda (1970) who reported that N.A.A. and I.B.A. are effective in inducing rooting in that order. Our results further reveal that N.A.A. is less effective in comparison to other growth regulators. Probably, the diversity in the edaphic factors and varieties used might be responsible for the differences in the course of action of hormones. Furthermore, the results indicated that the application of 100 ppm I.B.A. improved rooting in comparison to 50 ppm I.B.A. It is therefore envisaged that further increase in the concentration of this hormone may further increase the rooting percentage of the cuttings. The present investigation also reveals that all the growth regulators tried improved different growth parameters. These findings are in conformity with the findings of Mukherjee and Sharma (1971). However, the differences between treatments and control as regards different growth parameters were non significant when the data of all the three years and all the six varieties were pooled together and analysed statistically as is evident that a maximum shoot length of 140.85 cm was recorded with the application of 100 ppm I.B.A. as against 122.12 cm in control. The same trend is evident with the data on the number of shoots with 100 ppm I.B.A. ; the number of leaves per plant (Table II) which are recorded more with the application of 100 ppm I.A.A. and similarly the response of the height of saplings was better with all the treatments (Table II), but statistically the differences were non significant.

Interaction between hormones and varieties :

An interaction between hormones and varieties ($H \times V$) indicates that most of the varieties, viz. Goshierami, Rokokuyaso, K.N.G., Ichinose and Kokuso-27, responded to 100 I.B.A. ; whereas Chinese White responded to 50 ppm I.A.A. Although significant differences in the rooting percentages were recorded with the application of hormones in all the six varieties but the results were much less perceptible in all the varieties except Chinese White and Rokokuyaso. A maximum rooting percentage of 52.45 % (62.85 % actual value) was recorded in the variety Rokokuyaso with the application of 100 ppm I.B.A. as against 35.48 % (33.68 % actual value) in the control, which is statistically significant. In the case of variety, Chinese White, maximum rooting of 60.81 % (79.21 % actual value) was recorded with the application of 50 ppm I.A.A. as against 52.80 % (63.45 % actual value) in the control, which is again statistically significant (Table I). It is evident from the results that 100 ppm I.B.A. is effective in all the varieties tested except in Chinese White which responded to I.A.A. Probably, a combination of a few hormones may prove better and investigations in this regard are envisaged to be taken up.

Table VI. Showing the interaction between hormones and varieties ($H \times V$) as regards the number of leaves per plant.

Tableau VI. Interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) pour le nombre de feuilles par plant.

Treatment <i>Traitement</i>	Goshoerami (V ₁)	Rokokuyaso (V ₂)	K.N.G. (V ₃)	Ichinose (V ₄)	Chinese White (V ₅)	Kokuso-27 (V ₆)
Control / <i>Témoin</i> (H ₁)	22.56	39.22	77.83	28.37	31.87	23.25
50 ppm IBA (H ₂)	24.24	52.77	58.11	39.31	35.57	29.02
100 ppm IBA (H ₃)	26.57	49.38	38.59	31.84	34.95	33.59
50 ppm IAA (H ₄)	28.30	55.99	61.91	17.94	29.48	29.39
100 ppm IAA (H ₅)	36.77	71.19	64.47	27.85	32.91	28.10
50 ppm NAA (H ₆)	25.54	50.73	54.87	42.22	34.27	26.17
100 ppm NAA (H ₇)	19.34	48.17	27.77	28.91	3.97	26.50
F test / <i>Test F</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : Non significant / *Non significatif*.

Table VII. Showing the interaction between hormones and varieties ($H \times V$) as regards height of the plants.*Tableau VII. Interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) pour la hauteur des plants.*

Treatment <i>Traitement</i>	Goshoerami (V ₁)	Rokokuyaso (V ₂)	K.N.G. (V ₃)	Ichinose (V ₄)	Chinese White (V ₅)	Kokuso-27 (V ₆)
Control / <i>Témoin</i> (H ₁)	91.46	116.62	138.65	133.55	192.81	91.61
50 ppm IBA (H ₂)	114.55	133.52	141.52	138.08	201.49	127.42
100 ppm IBA (H ₃)	105.34	136.34	138.81	142.57	199.81	146.33
50 ppm IAA (H ₄)	111.74	128.34	188.57	80.61	181.15	87.52
100 ppm IAA (H ₅)	109.32	160.33	128.38	116.97	195.05	135.46
50 ppm NAA (H ₆)	95.25	132.06	148.80	142.32	193.36	89.04
100 ppm NAA (H ₇)	77.17	132.64	105.50	188.85	203.80	117.33
F test / <i>Test F</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : Non significant / *Non significatif*.

MULBERRY ROOTING AND INDUCTION OF ROOTING

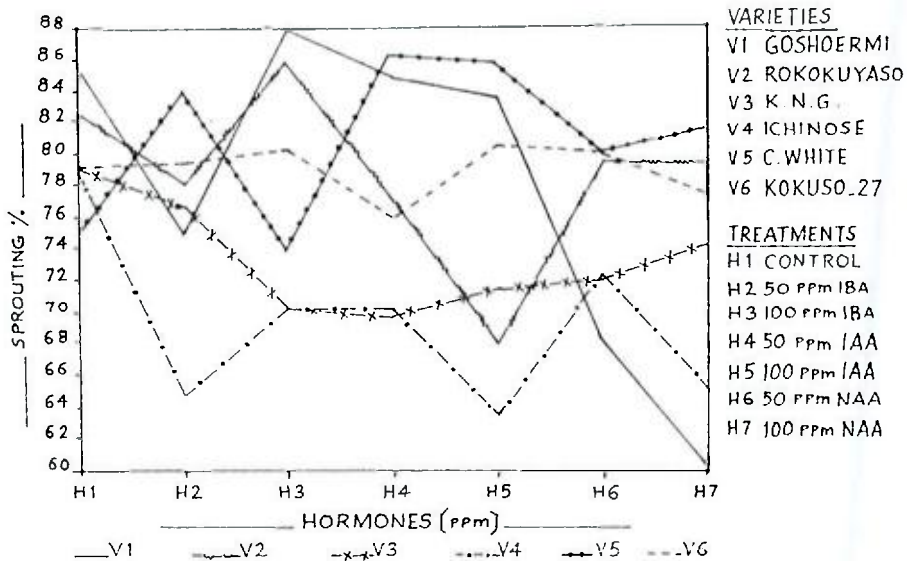


Fig. 1: Sprouting percentage of six mulberry varieties in response to different hormonal treatments (sprouting percentage after one month).

Fig. 1 : Pourcentage de bourgeonnement de six variétés de mûrier à la suite de divers traitements hormonaux (pourcentage de bourgeonnement après un mois).

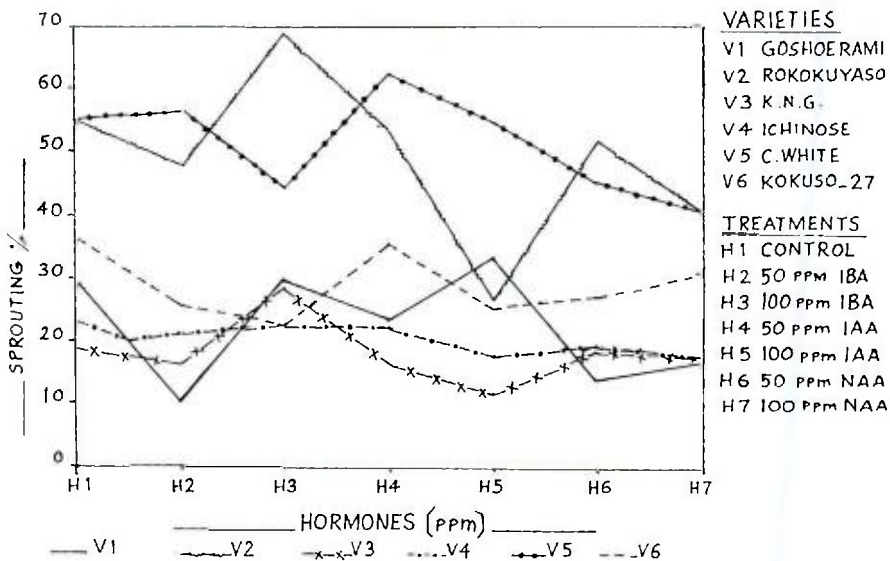


Fig. 2: Sprouting percentage of six mulberry varieties in response to different hormonal treatments (sprouting percentage after two months).

Fig. 2 : Pourcentage de bourgeonnement de six variétés de mûrier à la suite de divers traitements hormonaux (pourcentage de bourgeonnement après deux mois).

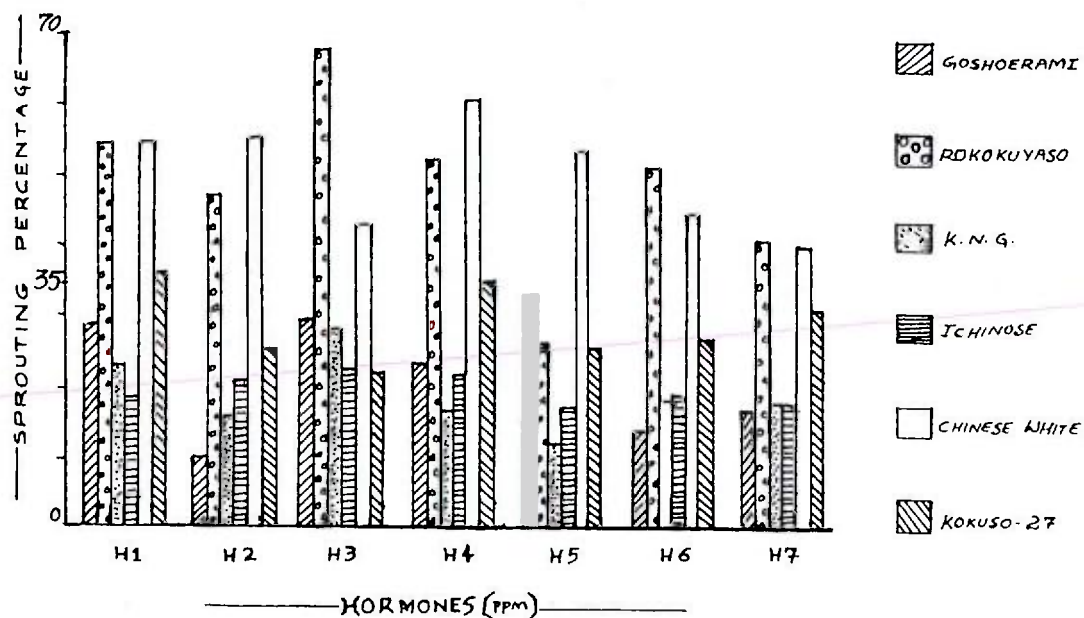


Fig. 3 : Sprouting behaviour of six mulberry varieties with and without hormonal treatment.

H1 - control, H2 - 50 ppm IBA, H3 - 100 ppm IBA, H4 - 50 ppm IAA, H5 - 100 ppm IAA, H6 - 50 ppm NAA, H7 - 100 ppm NAA.

Fig. 3 : Bourgeonnement chez six variétés de mûrier avec ou sans traitement hormonal.

H1 - témoin, H2 - 50 ppm IBA, H3 - 100 ppm IBA, H4 - 50 ppm IAA, H5 - 100 ppm IAA, H6 - 50 ppm NAA, H7 - 100 ppm NAA.



Fig. 4 : Screened mulberry variety - 'Chinese White' raised as bush plantation.

Fig. 4 : Variété de mûrier testée : "Chinese White" cultivée en arbuste.

An interaction between hormones and varieties revealed non significant differences in the number of shoots per plant (Table IV), length of shoot per plant (Table V), number of leaves per plant (Table VI) and height of saplings (Table VII). It can be inferred that with the application of growth regulators there is generally an improvement in growth parameters in all the varieties.

CONCLUSION

It is suggested to exploit the variety, Chinese White, for commercial utilization and further breeding programmes. The authors also suggest the rooting can be induced by the application of hormones in the mulberry varieties which have otherwise prepotency for rooting. In Chinese White, rooting can be improved by the application of I.A.A. However, further investigations are necessary on the increase in the concentrations of hormones and proper selection of the plant material in further enhancing the rootability and work on these lines is suggested.

REFERENCES

- Annual Report (1961-63), Central Sericultural Research Station, West Bengal, India.
 FISHER, YATES (1967), Statistical tables. Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh, 74-75.
 KRISHNASWAMY N., CHANDRASEKHARAN S.N. (1960), Cytogenetics and plant breeding. P. Varadachary and Co., Madras.
 MAHLSTEDE J.P., HABER E.S. (1957), Plant propagation. John Willey and Sons, Inc., New York.
 MUKHERJEE S.K., SHARMA D.N. (1971), Effect of some growth regulators on the rooting of mulberry cuttings. Ind. J. Seric., X(1), 23.
 NORMAN A.G. (1952), Advances in agronomy. Acad. Press., Inc. Publishers, New York, Vol. IV.
 PRAHALDA RAO L.S. (1960), Induction of rooting by hormones. Paper read at T.D.C., C.S.B.
 PRAHALDA RAO L.S. (1963), Vegetative propagation of Japanese mulberry varieties by the use of growth regulators. Ind. J. Seric., I(3), 7.
 SHANMUGAVELY K.G. (1975), Induction of rooting of mulberry (*M. alba* Linn.) cuttings with the aid of plant growth regulators under intermittent mist. Ind. J. Seric., XIV(1), 22.
 TSUNEO HONDA (1970), Studies on the propagation of mulberry trees by cuttings. Bull. Sericult. Expt. Sta., 24(1), 231.
 TUKEY H.B. (1954), Plant propagation in agriculture. John Willey and Sons, Inc., New York.

EVALUATION DE VARIETES DE MURIER POUR LE RACINEMENT ET L'INDUCTION DU RACINEMENT PAR DES REGULATEURS DE CROISSANCE

R.K. FOTADAR, M.M. AHSAN, K.L. DHAR & A. DHAR

Regional Sericultural Research Station, Pampore 192 121, Kashmir, Inde.

Une expérience a été menée au Regional Sericultural Research Station de Pampore (Cachemire, Inde) entre 1984-86 sur le test de six variétés prometteuses de mûriers concernant le racinement et l'induction de racines à l'aide de trois régulateurs de croissance, à savoir l'acide indol-butyrique, l'acide indol-acétique et l'acide naphthalène-acétique à deux concentrations de 50 ppm et 100 ppm chacune. Les variétés de mûrier utilisées pour cette expérience sont Goshierami, Rokokuyaso, Kairiyonezumigaeshi, Ichinose, Chinese White et Kokuso-27.

Parmi les variétés sélectionnées afin d'étudier leur mécanisme de racinement dans les conditions tempérées du Cachemire, la variété Chinese White donne des résultats significativement meilleurs que ceux obtenus avec Goshierami qui est, à l'heure actuelle, la variété la plus cultivée au Cachemire. En raison de sa facilité à prendre racine et de sa courte période de gestation, la variété Chinese White est celle qui convient le mieux aux conditions climatiques tempérées. On propose de développer la culture de cette variété à des fins commerciales. En ce qui concerne les effets des différents traitements hormonaux, on observe que l'acide indol-butyrique à 100 ppm s'avère efficace pour l'induction des racines chez les variétés qui sont déjà prépotentes au racinage. Les variétés qui sont moins prépotentes donnent un racinement plus faible même à l'aide des régulateurs de croissance. L'étude de l'interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) montre que l'application d'acide indol-butyrique améliore la prise des racines chez Goshierami, Rokokuyaso, Kairiyonezumigaeshi, Ichinose et Kokuso-27, alors que l'acide indol-acétique s'avère efficace uniquement sur Chinese White, le moins efficace étant l'acide naphthalène-acétique.

INTRODUCTION

Dans le Cachemire, la reproduction du mûrier se fait principalement par la méthode du greffage classique en utilisant des variétés étrangères comme greffons et les mûriers indigènes comme porte-greffe. Cette méthode présente plusieurs inconvénients : entre autres, elle demande beaucoup de main d'œuvre qualifiée à un coût élevé, de plus, le greffage classique prend 4 à 5 ans depuis la pépinière jusqu'au site de transplantation dans le champ. Cependant, on rencontre souvent des difficultés dans la reproduction de certaines variétés japonaises comme Goshierami, Ichinose, Kairiyonezumigaeshi et Kokuso-27, qui se sont pourtant bien adaptées et sont très appréciées des sériciculteurs du Cachemire. Il serait utile de parvenir à reproduire ces variétés par bouturage car les boutures ayant pris racine permettent d'obtenir des feuilles dans les deux ans. En outre, l'importance de la reproduction végétative ou par clonage qui permet de préserver les caractéristiques de l'espèce n'est plus à démontrer (Mahlstedt et Haber, 1957 ; Krishnaswamy et Chandrasekharan, 1960). Compte tenu de ces observations, on a étudié le mécanisme de racinage de quelques variétés prometteuses afin de déterminer la variété la plus adaptée à une exploitation commerciale. L'étude de la faisabilité des différents traitements hormonaux susceptibles d'induire les racines chez ces variétés a également été effectuée.

L'utilisation d'hormones présente un avantage particulier pour la reproduction des variétés de mûrier japonaises car on n'a pu obtenir un pourcentage acceptable de succès dans la reproduction végétative sans l'aide des hormones de racinement chez toutes les variétés. Cependant, il ne faut pas perdre de vue le fait que l'hormone de racinement ne peut être utilisée avantageusement que si le matériel expérimental est déjà prédisposé au racinement. Le rôle de l'hormone est, au mieux, de servir de mécanisme accélérateur agissant sur les primordiums de la racine (Mahlstede et Haber, 1957 ; Tukey, 1954). Avec un matériel qui ne réagit normalement pas au racinement, les traitements aux hormones pourraient se révéler peu rentables. De nombreux chercheurs ont démontré l'importance des régulateurs de croissance de la plante sur la prise des racines des boutures de mûriers. Une expérience sur l'induction des racines chez quelques variétés de mûrier japonaises au moyen de régulateurs de croissance - à savoir : l'acide indol-butyrique, l'acide indol-acétique, le rootone et le séradox - a donné des résultats positifs, chez une des variétés en particulier (Prahlada, 1960). Des expériences, réalisées afin de déterminer l'effet de l'acide indol-butyrique et de l'acide naphthalène-acétique sur la prise des racines de boutures de mûrier de deux variétés sous brumisation intermittente, ont permis d'obtenir un pourcentage élevé de reprise avec l'application d'acide indol-butyrique et d'acide naphthalène-acétique chez la variété Kanva-2. Pour l'autre variété, l'acide indol-butyrique donne un taux de survie maximal par rapport à l'acide naphthalène-acétique et au témoin chez les trois types de boutures expérimentées (Shammugavelly, 1975). L'étude de la reproduction de boutures ligneuses au Japon révèle que, parmi les substances chimiques du groupe auxine, l'acide naphthalène-acétique et l'acide indol-butyrique ont une influence maximale sur l'induction des racines par rapport à l'acide indol-acétique (Tsuneo Honda, 1970). Des expériences antérieures menées de 1961 à 1963 sur le terrain au Central Sericultural Research Station de Berhampore (Inde) démontrent que le séradox, l'acide naphthalène-acétique et l'acide indol-acétique ont un effet stimulant sur la prise des racines des boutures de mûriers locaux (*Morus alba*) mais pas sur celles des variétés japonaises. Mukherjee et Sharma (1971) ont observé que l'acide indol-acétique avait un effet optimal sur la prise des racines chez la variété japonaise Kosen. Aussi avons-nous entrepris cette étude afin de déterminer l'effet de différentes concentrations de certains régulateurs de croissance sur quelques variétés de mûrier prometteuses et leur interaction dans les conditions agro-climatiques du Cachemire (Inde). Dans cette étude, les techniques expérimentales sont, dans la mesure du possible, faites sans qu'on ait eu recours à des milieux de bouturage spéciaux afin d'obtenir des résultats pouvant s'appliquer à des conditions naturelles réelles. Le seul facteur pris en considération est le fait que les boutures sont recouvertes de feuilles de polyéthylène pendant une période d'un mois pour créer une atmosphère humide et augmenter la température du sol.

MATERIEL ET METHODES

L'expérience est menée selon la méthode des blocs avec trois réplicats sur un terreau argileux. Le sol, le sable et le fumier sont ajoutés selon un rapport de 3:2:1 aux lits de la pépinière. Les lits, d'une taille de 50 x 400 cm, sont placés un peu au-dessus du sol. Dix-huit lots en tout sont préparés, permettant de répartir six variétés en trois réplicats (6 x 3). Chaque lot est ensuite divisé en sept sous-groupes/unités correspondant à sept traitements hormonaux pour chaque variété (18 x 7) et, finalement, 126 sous-groupes/unités (3 x 6 x 7) sont ainsi préparés. Tous ces traitements, c'est-à-dire variétés et hormones, sont répartis au hasard dans le champ. Cent boutures sont plantées dans chaque sous-lot et chaque traitement est appliqué sur les trois cents boutures correspondant aux trois réplicats.

Hormones	×	Variétés
H1 témoin		V1 Goshorami
H2 Acide indol-butyrique à 50 ppm (IBA)		V2 Rokokuyaso
H3 Acide indol-butyrique à 100 ppm (IBA)		V3 Kairyonezumigaeshi (K.N.G.)
H4 Acide 3-indol-acétique à 50 ppm (IAA)		V4 Ichinose
H5 Acide 3-indol-acétique à 100 ppm (IAA)		
H6 Acide naphthalène-acétique à 50 ppm (NAA)		V5 Chinese White
H7 Acide naphthalène-acétique à 100 ppm (NAA)		V6 Kokuso-27

Les boutures de pousses d'un an, matures et vigoureuses, comportant trois à quatre bourgeons vivants, sont sélectionnées pour la reproduction. On évite les parties trop matures et les parties tendres des branches pour la préparation des boutures. Les boutures sont traitées avec trois hormones à deux concentrations de 50 ppm et 100 ppm chacune suivant la méthode de trempage dans la solution, celle-ci s'étant avérée la plus efficace (Tsuneo Honda, 1970). Les extrémités basales des boutures sont trempées sur une hauteur de 3 cm pendant une nuit dans leurs solutions hormonales respectives. Pour le témoin, les boutures sont maintenues pendant une nuit dans de l'eau distillée. Les boutures traitées sont retirées le lendemain matin puis lavées à l'eau courante. Les boutures sont plantées le 28 mars pour les trois années d'expérimentation. L'espacement est maintenu à 10 × 20 cm. Afin d'augmenter la température et l'humidité du sol, les litières sont recouvertes de feuilles de polyéthylène. On enlève les chatons des boutures, car il a été démontré que la formation de chatons a un effet significatif sur la croissance des boutures (Norman, 1952).

Les données concernant le pourcentage de bourgeonnement sont recueillies à intervalles d'un mois et les autres paramètres de croissance sont relevés quand les plantes entrent dans la période de dormance (une fois la phase de croissance terminée). Le pourcentage de survie des boutures est enregistré, mis en tableau pour les trois années d'expérimentation et transformé en valeurs angulaires (Fisher et Yates, 1967). L'irrégularité de la variance rend inutile l'analyse de variance directe. On pensait que le pourcentage de reprise des racines suivrait la distribution binomale, il est donc utile de réaliser une transformation en calculant l'angle θ qui correspond à la valeur observée de proportion P , telle que l'angle $\theta = \sqrt{P}$. Les valeurs transformées sont analysées suivant la procédure habituelle d'analyse de variance. La somme des carrés et le carré moyen des différents traitements et des différents réplicats sont calculés de la manière courante. L'analyse complète (analyse combinée) porte sur le nombre de sous-groupes, le diviseur de chaque somme de carrés étant fonction du nombre de sous-groupes duquel est composé chacun des éléments à porter au carré ; à savoir pour le traitement hormonal, le diviseur est 18 (réplicats × variétés) et, pour les variétés, le diviseur est 27 (hormones × réplicats). L'intervalle de confiance et l'écart type sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Ecart type} = \sqrt{\frac{\text{Ecart carré moyen}}{\text{Nombre de réplicats}}} \times \sqrt{2}$$

Intervalle de confiance = écart type × valeur de t 5 % à un certain seuil de liberté.

La différence qui n'est significative qu'à un seuil donné est appelée intervalle de confiance et est calculé pour tous les paramètres. On calcule habituellement cette différence pour toutes sortes d'analyses. L'analyse du pourcentage de prise des racines est faite à partir des transformées angulaires. Les autres paramètres sont analysés suivant les données moyennes originales, conformément à l'analyse de variance pour la méthode des blocs.

RESULTATS ET DISCUSSION

On remarque d'énormes bourgeons un mois après la plantation chez toutes les variétés étudiées (Fig. 1) du fait du matériel alimentaire en réserve disponible dans les boutures, on note ensuite un assèchement des bourgeons au moment où aucun aliment ne peut plus être retiré des racines (Fig. 2). On observe un bourgeonnement maximum chez Goshoeami, Rokokuyaso et Kokuso-27 avec de l'I.B.A. à 100 ppm alors que Chinese White réagit à l'I.A.A. Les variétés K.N.G. et Ichinose ne réagissent à aucun des traitements hormonaux en ce qui concerne le bourgeonnement. Les réactions des six variétés au racinement et aux hormones dans l'induction des racines et l'effet hormonal sur les paramètres de la croissance sont discutés ci-dessous. L'interaction entre les traitements hormonaux et les variétés est également discutée.

Variétés :

La lecture des données sur le pourcentage de bourgeonnement, de prise de racines et d'autres paramètres de la croissance des six variétés de mûrier (Fig. 3, Tableau I) révèle que Chinese White réagit le mieux au racinement par bouturage, Rokokuyaso vient en deuxième position. Ces deux variétés donnent des pourcentages de racines supérieurs à ceux de Goeshoerami pour les trois années d'expérience. On obtient un pourcentage de racine de 62,7 % (52,35 % en valeur transformée) contre 6,85 % (15,17 % en valeur transformée) chez Goeshoerami sans aucun traitement hormonal quand on réunit les données concernant cette variété pour les trois années. Les pourcentages de racines de 59,27 %, 67,29 % et 61,45 % (49,79, 56,31 et 51,03 % en valeurs transformées) sont obtenus chez Chinese White pour les trois années consécutives. On peut considérer qu'un pourcentage de racines de plus de 60 % est encourageant dans des conditions où la plupart des variétés de mûrier japonaises montrent peu d'expression au niveau de la prise des racines. Ceci confirme les résultats de Prahlada (1963) qui a démontré que K.N.G., l'une des variétés étudiées ici, ne réagit pas non plus aux traitements hormonaux. On note des différences significatives entre les variétés suivant les divers paramètres de croissance. On relève une hauteur maximum de 195,35 cm chez la variété Chinese White contre 99,11 chez Goeshoerami. Un nombre plus important de pousses est également enregistré chez Chinese White, tandis qu'on relève un nombre maximum de 54,71 feuilles chez la variété K.N.G. contre 33,14 chez Chinese White (Tableau I). Ceci est probablement dû au fait que la distance internodale chez K.N.G. est beaucoup plus courte que chez Chinese White. Du fait de sa facilité à prendre des racines, de sa courte période de gestation et de ses paramètres de croissance plus performants, il est conseillé d'utiliser cette variété pour l'exploitation dans les champs. De plus, cette variété permet d'obtenir des feuilles pour l'élevage commercial des vers à soie dans les deux ans qui suivent la plantation en arbustes.

Hormones :

La lecture des données regroupées des six variétés montre une prise de racines de 30,41 % avec l'application d'I.B.A. à 100 ppm contre 23,63 % chez le témoin, ce qui est statistiquement significatif. Les pourcentages de racines de 29,90, 28,06 et 33,27 respectivement sont relevés au cours des trois années d'expérimentation. Au cours de la première et de la troisième année, on observe une différence significative dans la prise des racines due à l'application d'I.B.A., mais aucune différence importante n'est relevée au cours de la deuxième année. Cependant, on note que l'application d'I.B.A. permet une prise maximum des racines au cours de la deuxième année également. Même si l'application de 100 ppm d'I.B.A. améliore très nettement la prise des racines, l'expression des résultats est moins forte. Les résultats présentés ici sont toutefois contraires à ceux de Honda (1970) qui avait observé que N.A.A. et I.B.A. induisent les racines de manière efficace chez cette espèce. Nos résultats révèlent en outre que N.A.A. est moins efficace que d'autres régulateurs de croissance. Il est probable que la diversité des facteurs édaphiques et des variétés utilisées soit responsable des différences dans l'action des hormones. De plus, les résultats indiquent que l'application d'I.B.A. à 100 ppm améliore le racinement par rapport à l'I.B.A. à 50 ppm. On suppose donc qu'une augmentation supplémentaire de la concentration de cette hormone pourrait accroître encore davantage le pourcentage de racinement des boutures. La présente étude révèle également que tous les régulateurs de croissance testés améliorent les différents paramètres de la croissance. Ces résultats confirment ceux de Mukherjee et Sharma (1971). Cependant, les différences apparaissant entre les groupes traités et le témoin en ce qui concerne les divers paramètres de la croissance ne sont pas significatives lorsque les paramètres et les six variétés sont regroupés et analysés statistiquement bien qu'il soit évident que l'application d'I.B.A. à 100 ppm donne une longueur maximum de la pousse de 140,85 cm contre 122,12 cm chez le témoin. La même tendance apparaît avec les données concernant le nombre de pousses par plant (Tableau II) donnant un nombre maximum de pousses avec l'I.B.A. à 100 ppm, le nombre de feuilles par plant (Tableau II) qui est plus élevé lorsqu'on applique de l'I.A.A. à 100 ppm et la hauteur des arbustes qui réagit à tous les traitements (Tableau II) ; les différences ne sont toutefois pas significatives sur le plan statistique.

Interaction entre les hormones et les variétés :

L'analyse de l'interaction entre les hormones et les variétés ($H \times V$) indique que la plupart des variétés - à savoir Goshocrami, Rokokuyaso, K.N.G., Ichinose et Kokuso-27 - réagissent à l'I.B.A. à 100 ppm, alors que Chinese White réagit à l'I.A.A. à 50 ppm. Bien que des différences significatives dans les pourcentages de racinement soient relevées avec l'application d'hormones chez les six variétés, les résultats sont nettement moins sensibles chez toutes les variétés sauf chez Chinese White et Rokokuyaso. On observe un pourcentage maximum de racinement de 52,45 % (62,85 % en valeur réelle) chez la variété Rokokuyaso avec l'application d'I.B.A. à 100 ppm contre 35,48 % (33,68 % en valeur réelle) chez le témoin, ce qui est statistiquement significatif. Dans le cas de la variété Chinese White, on note un racinement maximum de 60,81 % (79,21 % en valeur réelle) avec l'application d'I.A.A. à 50 ppm contre 52,80 % (63,45 en valeur réelle) chez le témoin, ce qui est également significatif sur le plan statistique (Tableau I). Les résultats montrent clairement que l'I.B.A. à 100 ppm est efficace sur toutes les variétés testées sauf Chinese White qui réagit à l'I.A.A. Il est probable qu'une combinaison de quelques hormones s'avère plus efficace et on envisage d'entreprendre une étude à ce sujet.

L'analyse de l'interaction entre les hormones et les variétés donne des différences non significatives dans le nombre de pousses par plant (Tableau IV), la longueur de la pousse par plant (Tableau V), le nombre de feuilles par plant (Tableau VI) et la hauteur des arbustes (Tableau VII). On peut en conclure que l'application des régulateurs de croissance permet, en règle générale, d'améliorer les paramètres de la croissance chez toutes les variétés.

CONCLUSION

Il est conseillé d'utiliser la variété Chinese White pour l'exploitation commerciale et dans les programmes d'élevage. Les auteurs suggèrent également que le racinement peut être induit par l'application d'I.B.A. sur la plupart des variétés de mûrier et que ce traitement hormonal ne peut être utilisé que sur les variétés qui sont prépotentes au racinement. Chez Chinese White, le racinement peut être amélioré par l'application d'I.A.A. Cependant, il est nécessaire de réaliser des expériences supplémentaires sur l'augmentation de la concentration des hormones et sur une sélection appropriée du matériel végétal afin d'optimiser le racinement. Une étude portant sur ce sujet est donc conseillée.

FACTORS INFLUENCING *IN VIVO* DETERMINATIONS OF NITRATE REDUCTASE (EC 1.6.6.1) ACTIVITY IN MULBERRY (*MORUS ALBA* L.)

K. PALIWAL & M. ILANGO VAN

Department of Plant Sciences, School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, India.

Nitrate reduction in a mulberry (Morus alba) on a leaf fresh weight basis was measured by in vivo spectrophotometry as a function of leaf age. Nitrate reductase (NR) activity was maximum in the fully expanded mature leaf [$5.686 \mu\text{mol (g.f.wt)}^{-1} \text{h}^{-1}$] followed by [$3.254 \mu\text{mol (g.f.wt)}^{-1} \text{h}^{-1}$] in the tender leaf, and [$0.140 \mu\text{mol (g.f.wt)}^{-1} \text{h}^{-1}$] in the senescent leaf. A series of experiments was performed to characterize some of the apparent properties of nitrate reductase. The greatest response to extra nitrate was with the application of 100 mM KNO_3 to the medium. The optimised incubation temperature for the maximum NR activity was at 40°C and the optimum pH of the medium was 7.0. NR activity was linear with the incubation time and the quantity of leaf tissue. Inclusion of an organic solvent, triton x-100 (0.1 % v/v) alone or triton x-100 (0.2 % v/v) in combination with n-propanol (1 % v/v) markedly enhanced the rate of nitrate reduction as compared to other tested organic solvents. Variation in nutrient content and selectivity of foliage age for food by larvae are discussed.

Keywords : NR - nitrate reductase, mulberry, fully expanded mature leaf, nutrient, protein content.

INTRODUCTION

Although the rate and form of nitrogen delivered by the soils of various vegetation types may be known (Blacquiére, 1986), relatively paucity of information is available about the nitrogen form utilised by individual plants in natural habitats. Nitrogen assimilation studies are confounded by the ability of the plant to fix atmospheric nitrogen and to reduce nitrate. The reduction of nitrate to nitrite is catalysed by an enzyme nitrate reductase (NR, EC 1.6.6.1), which is located in the cytosol. The most common form of enzyme in higher plants requires NADH as reductant (Oaks and Hirel, 1985). The induction of the nitrate uptake system depends on the external nitrate concentration. Nitrate metabolism is regulated by nitrate uptake for nitrate reductase (NR) activity was present in plants without a nitrate uptake system (N-free grown). This proves that the NR synthesized in the early stage of the plant development is a constitutive enzyme and does not depend on nitrate uptake. However, as soon as the nitrate uptake system was induced, the NR activity was directly influenced by the nitrate uptake rates (Maeck and Tischner, 1986). Plant and leaf age affect the induction of nitrate reductase (Kannangara and Woolhouse, 1967 ; Harper and Hageman, 1972). The synthesis of protein, containing nitrogen derived from the entering nitrate, occurred in close association with the reduction process itself (Morgon *et al.*, 1986).

The plant quality varies with growth form and leaf age (Smiley, 1978 ; Denno and Donnelly, 1981) with consequent effects on herbivore fitness (metabolism and growth rate). Rhoades and Cates (1976) proposed that specialists should prefer young foliage since it is easier to digest and is often more nutritious. Old leaves (not senescent) contain fewer toxins, though they are more difficult to digest (Gordon, 1961).

For *Morus alba* L., only a few studies on N-metabolism have been published, although nitrate fertilization directly affects the plant growth and therefore is of economic and agricultural significance. The present investigation envisages the rate of nitrate reduction as a function of leaf age and the various factors influencing the enzyme, *in vivo* NR activity, in *Morus alba* L. leaves. The *in vivo* NR activity was used as one of the indications for nitrate availability and to identify the correct stage of the leaf to feed the young-aged silkworm which needs maximum protein content from the leaf.

MATERIALS AND METHODS

Morus alba L. (mulberry) cuttings were grown in earthen pots containing garden soil. The pots were replenished with half-strength Hoagland solution containing 10 mM KNO₃. The pots were kept in an open field (air temperature 30 ± 2°C ; 60 ± 5 % relative humidity ; 800 ± 100 w/m² solar radiation ; 14 h photoperiod).

In vivo nitrate reductase activity (EC 1.6.6.1) :

The leaves of 30-day-old cuttings were selected for characterization of the *in vivo* assay derived from Jaworski's procedure (1971). The deribbed and deveined leaves were cut into 1 mm size, mixed, weighed (200 mg) and added to 5 ml of incubation medium composed of 100 mM KH₂PO₄ (pH 7.0), 100 mM KNO₃, 1 % (v/v) n-propanol contained in 10 ml glass vials. These were kept in evacuation chamber and connected to a vacuum pump via a two-way stop cock. Alternate evacuation and readmission of air was performed for 2 minutes during which time the tissue became completely submerged. The vials were disconnected and incubated in the dark for 60 minutes with occasional shaking at 28 ± 2°C. Suitable aliquotes were taken for nitrite estimation. Nitrite was measured as the colour complex developed with 1 ml of 0.1 % sulfanilamide in 2 N HCl and 1 ml 0.01 % N-naphthyl ethylene diamine dihydrochloride. Absorbance was read at 540 nm in a spectrophotometer (LKB, biochrom, ultrospec II) and compared with the nitrite standards prepared in an incubation medium. The NR activity is expressed as micromoles NO₂⁻ formed per gram fresh weight per hour.

RESULTS

An attempt has been made to understand the NR activity on various physiological ages of the *Morus alba* L. leaf. The fully expanded mature leaf showed the maximum activity while with increasing age the enzyme activity fell. When compared to the tender leaf, the fully expanded mature leaf showed an increase of 175 % in the NR activity. The senescent leaf showed a decrease of 3 % in the NR activity of the fully expanded mature leaf (Table I).

The effect of additions of different concentrations of nitrate in the assay medium to assay the NR activity in *Morus alba* L. leaves was shown in Fig. 1. Addition of nitrate in the assay medium enhanced the NR activity. The increasing concentration of nitrate increased the activity up to 100 mM. The increase in NR activity was 246, 428, 595 and 634 % at 10, 25, 50 and 100 mM external nitrate in the assay medium respectively. A copious supply of external nitrate above 100 mM concentration decreases NR activity. The pH optimum for NR activity was 7.0. The enzyme activity decreases significantly below or above pH 7.0, the acidic pH being more favourable than the alkaline pH (Fig. 2). The enzyme activity was found to vary with the incubation temperature, the optimum temperature being 40°C. At 50°C the enzyme activity was inhibited 32 % of that at 40°C (Fig. 3). There is a linear relation between enzymatic activity and reaction time in the range of 0-120 minutes (Fig. 4). A linear relation was also found between NR activity and tissue weight (Fig. 5). Of the nine organic solvents added to the incubation medium containing optimal nitrate (100 mM) triton x-100 (0.1 % v/v) was the most effective, followed by n-propanol, ethanol, methanol and iso-propanol. An increase of 550 % in the *in vivo* NR activity was assayed with plus triton x-100 over the minus triton x-100 in the incubation medium. The other organic solvents tested, namely chloroform and benzene, markedly inhibited the NR activity (Table II). Inclusions of n-propanol at 1 % and triton x-100 at 0.2 % (v/v) markedly enhanced the NR activity whereas other concentrations showed a marked

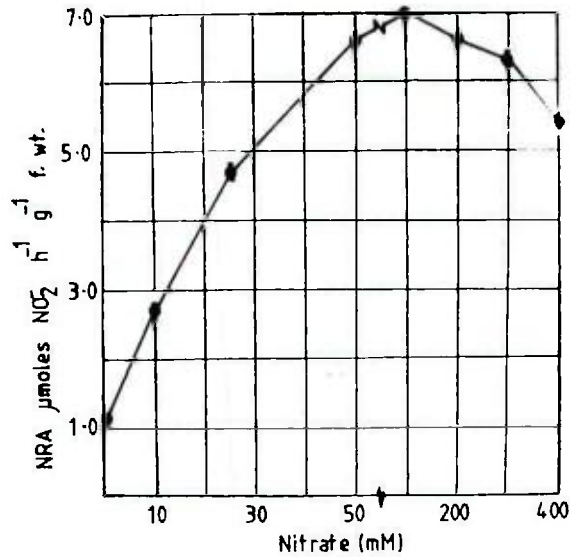


Fig. 1 : Effect of different concentrations of exogenous nitrate on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Fig. 1 : Effet du nitrate exogène à diverses concentrations sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase.

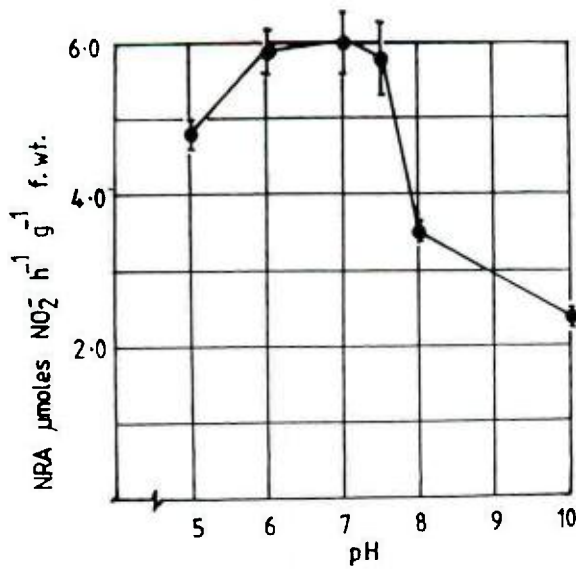


Fig. 2 : Effect of pH on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Fig. 2 : Effet du pH sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase.

Table I. Nitrate reductase activity in the leaves of *Morus alba* L. at different physiological ages of the leaf.

Tableau I. Activité de la nitrate réductase dans les feuilles de *Morus alba* L. à différents âges physiologiques de la feuille.

Leaf ages* Age de la feuille*	Nitrate reductase activity $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{ f. wt.}$ Activité de la nitrate réductase $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de poids frais
Tender leaf / Feuille tendre	3.254 $\pm$ 0.550
Fully expanding mature leaf Feuille mature entièrement développée	5.686 $\pm$ 0.221
Senescent leaf / Feuille sénescence	0.140 $\pm$ 0.040

$\pm$ values indicate standard deviation (n=6) / Les valeurs $\pm$ indiquent l'écart type (n=6).

* The uppermost horizontal leaf was the tender leaf, with moving approximately 10-11 inches each downwards correspond to increasing leaf age (fully expanding mature leaf, senescent leaf).

* La feuille horizontale supérieure est la feuille tendre, aux niveaux inférieurs se trouvent, tous les 10 à 11 pouces, les feuilles plus âgées (feuille mature entièrement ouverte, feuille sénescence).

Table II. Effect of organic solvents on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Tableau II. Effet des solvants organiques sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase.

Inclusions of organic solvents (v/v) Addition de solvants organiques (v/v)	Nitrate reductase activity $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{ f. wt.}$ Activité de la nitrate réductase $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de poids frais
Control (none) / Témoin (aucune)	1.116 $\pm$ 0.190
Triton x-100 (0.1 %) / Triton x-100 (0.1 %)	6.143 $\pm$ 0.483
(Octyl phenoxy polyethoxy-ethanol) (Octyl phénoxy polyéthoxy-éthanol)	
N-propanol (1 %) / N-propanol (1 %)	4.495 $\pm$ 0.161
Ethanol (1 %) / Ethanol (1 %)	4.361 $\pm$ 0.195
Methanol (1 %) / Méthanol (1 %)	4.257 $\pm$ 0.550
Isopropanol (1 %) / Isopropanol (1 %)	4.084 $\pm$ 0.480
Acetone (1 %) / Acétone (1 %)	2.963 $\pm$ 0.281
Dinitrosalicylic acid (1 %) / Acide dinitrosalicylique	1.155 $\pm$ 0.040
Benzene (1 %) / Benzène (1 %)	0.374 $\pm$ 0.264
Chloroform (1 %) / Chloroforme (1 %)	0.349 $\pm$ 0.069

$\pm$ values indicate standard deviation (n=6) / Les valeurs $\pm$ indiquent l'écart type (n=6).

decrease in the NR activity (Table III). Combination of triton x-100 (0.2 % v/v) and n-propanol (1 % v/v) also enhanced the NR activity (Table IV).

DISCUSSION

The enzyme activity was affected by the physiological ages of the leaf. Observations of marked differences in the enzyme activity in different physiological leaf ages (Nicholas *et al.*, 1976 ; Srivastava, 1980 ; Kailash Paliwal *et al.*, 1986 ; Muthuchelian *et al.*, 1986) countenance to our observations. The maximum enzyme activity in the fully expanded mature leaf is possibly due to its higher photosynthetic activity and greater ability of nutrient uptake (Kannangara and Woolhouse, 1967 ; Kailash Paliwal *et al.*, 1986) or greater enzyme level (Nicholas *et al.*, 1976). The ability of younger but physiologically matured leaves to synthesize NR in greater quantities than the other leaves may be explained by enhanced CO₂ fixation and increased protein synthesis (Bilal and Rains, 1973 ; Srivastava, 1980).

Table III. Effect of different concentrations of organic solvents on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Tableau III. Effet de différentes concentrations de solvants organiques sur l'activité *in vivo* de la nitratre réductase.

Inclusions of organic solvents at different concentrations <i>Additions de solvants organiques à diverses concentrations</i>	Nitrate reductase activity $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{f.wt.}$ <i>Activité de la nitratre réductase $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{de poids frais}$</i>
Control (none) / <i>Témoin (aucune)</i>	2.475 $\pm$ 0.067
Propanol (v/v)	
1 %	5.140 $\pm$ 0.345
2 %	4.165 $\pm$ 0.143
3 %	4.096 $\pm$ 0.561
4 %	3.474 $\pm$ 0.166
5 %	2.371 $\pm$ 0.017
Triton X-100 (v/v)	
0.1 %	5.186 $\pm$ 0.225
0.2 %	5.567 $\pm$ 0.171
0.3 %	5.475 $\pm$ 0.910
0.4 %	5.250 $\pm$ 0.065
0.5 %	5.240 $\pm$ 0.218

$\pm$ values indicate standard deviation (n=6) / *Les valeurs $\pm$ indiquent l'écart type (n=6).*

The effect of nitrate concentration on *in vivo* NR activity in the incubation medium is shown in Fig. 1. The increase in the activity indicates that the availability of nitrate for the enzyme was limited and that 100 mM external nitrate in *Morus alba* L. was required to saturate the enzyme. Less enzyme

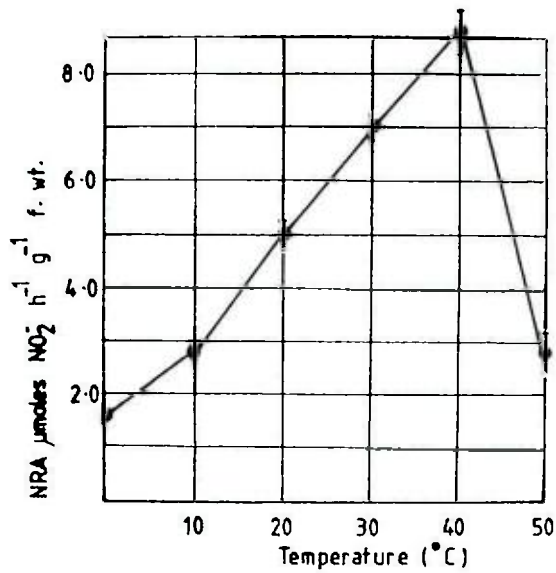


Fig. 3 : Effect of temperature on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Fig. 3 : Effet de la température sur l'activité *in vivo* de la nitratre réductase.

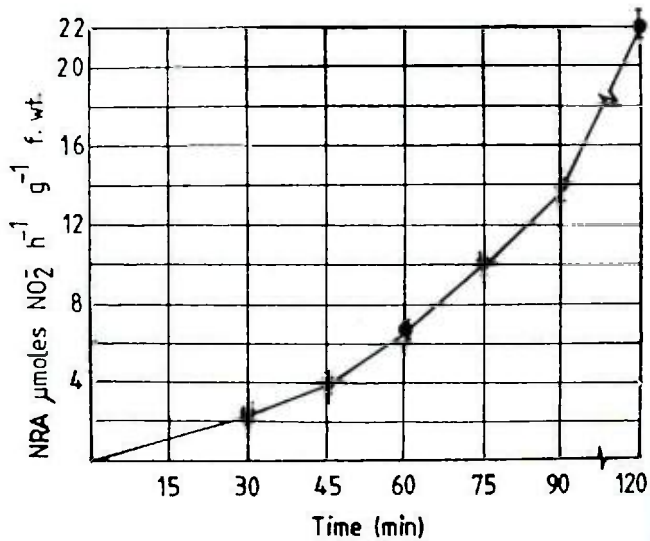


Fig. 4 : Effect of reaction time on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Fig. 4 : Effet du temps de réaction sur l'activité *in vivo* de la nitratre réductase.

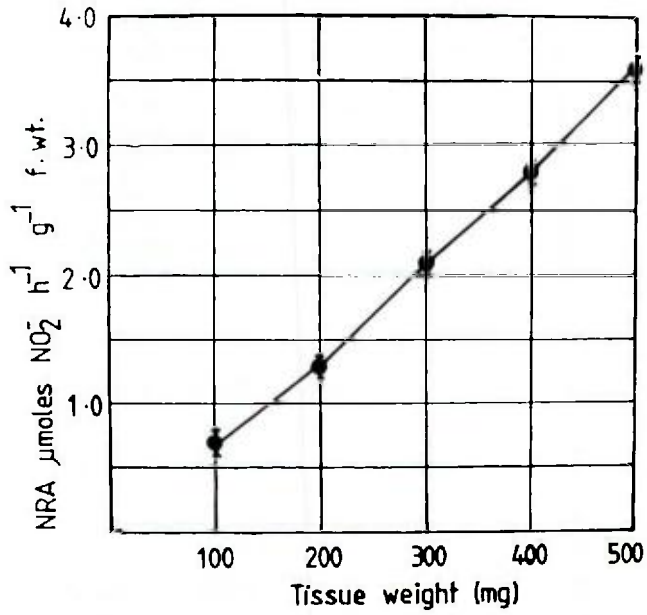


Fig. 5 : Effect of tissue weight on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Fig. 5 : Effet du poids tissulaire sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase.

activity assayed in the absence of external nitrate shows that in spite of adequate induction of NR activity in the leaves, much of the endogenous nitrate was not accessible unless externally nitrate was supplied. Ferrari *et al.* (1973) reported that higher plants, in general, contain metabolic and storage pools of nitrate. Thus the enhancement of the *in vivo* NR activity with the inclusion of external nitrate may have occurred from increased accessibility of nitrate to the enzyme (Tingey *et al.*, 1974). The decrease in nitrate reductase with external nitrate concentration beyond the optimum observed in *Morus alba* L. is in harmony with others (Klepper *et al.*, 1971; Dusky and Galitz, 1977; Lin and Kao, 1980; Datta *et al.*, 1985; Venkataramana and Ramadas, 1985; Clarkson, 1986). Inasmuch as enzymes vary as to their pH optima, any change in the cellular pH may result in considerable changes in the relative balances between metabolic pathways. The decrease in the *in vivo* NR activity at pH below and above the optimum may confirm to such a possibility besides the pH-induced alternations in the binding of the co-factor or the substrate to the enzyme and liability of the enzyme and/or the co-factor (Jones and Sheard, 1977; Hallmark and Huffacker, 1978; Lawrence and Herrick, 1982; Smith and Rice, 1983). The results of the effect of pH and temperature on the *in vivo* NR activity point out the liability of the enzyme to extreme pH and temperature. The thermal inactivation and acid-liability which vary with enzyme and pH in the present work are in accordance with several crop plants reported by Chopra (1983). The linear relations between NR activity and reaction time, NR activity and tissue weight have been reported in experiments with other species (Bilal and Rains, 1973; Dusky and Galitz, 1977; Lin and Kao, 1980).

Table IV. Effects of triton X-100 and n-propanol on the *in vivo* nitrate reductase activity.

Tableau IV. Effets du triton X-100 et du n-propanol sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase.

Inclusions of organic solvents <i>Inclusion de solvants organiques</i>	Nitrate reductase activity $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{f. wt.}$ <i>Activité de la nitrate réductase</i> $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{de poids frais}$
Control (none) / <i>Témoin (aucune)</i>	2.861 $\pm$ 0.219
N-propanol (1 % v/v)	3.667 $\pm$ 0.124 (128)
Triton X-100 (0.2 % v/v)	4.309 $\pm$ 0.312 (151)
N-propanol + triton X-100	4.095 $\pm$ 0.610 (143)

The figures in parentheses represent the increased percentage effects of NR activity over the control. $\pm$ values indicate standard deviation (n=6).

Les chiffres entre parenthèses représentent le pourcentage d'augmentation de l'activité de la NR par rapport au témoin. Les valeurs $\pm$ indiquent l'écart type.

Based on the results reported here it is evident that monohydroxy alcohols initiate nitrite production in leaf segments. The function of these additions of organic solvents to the assay medium has been suggested to increase permeability of the membranes (Jaworski, 1971; Nicholas *et al.*, 1976; Jones and Sheard, 1977) and reduction of surface tension for better contact of tissue and medium (Jones and Sheard, 1977). Moreover, the stimulatory effect of triton x-100 plus n-propanol was due to the transfer of nitrate (substrate) from a vacuolar storage pool to an active cytoplasmic pool accessible to the enzyme (Ferrari *et al.*, 1973; Adamowicz, 1980; Lawrence and Herrick, 1982).

The *in vivo* assay as described here is simple and rapid means for the determination of the enzyme. This method allows a reliable determination of the *in vivo* NR activity in tissues under all physiological conditions.

A larva on a food that has deteriorated in nutritional quality (i.e. low in leaf total nitrogen content) may suffer a reduced rate of feeding and growth with elevated assimilation efficiency either because it decides not to feed faster or because it does not have the ability to feed faster (may increase the food retention time in its gut) (Mattson, 1980). All specialist herbivores studied by earlier authors (Fenny, 1976 ; Gilbert, 1979 ; Cates, 1980 ; Chockalingam and Krishnan, 1984) showed a distinct preference for the younger leaves which are more nutritious but potentially more toxic than the medium and old-aged leaves. There is some disagreement in the literature on whether the larvae prefer young or old leaves (not senescent). Fully expanded mature leaves (old leaves but not senescent) of mulberry showed a maximum NR activity, which is possibly due to greater ability of nutrient uptake (Kannangara and Woolhouse, 1967 ; Kailash Paliwal *et al.*, 1986) and increased protein synthesis (Bilal and Rains, 1973 ; Srivastava, 1980). Summarizing, the data presented in this paper are taken as a reliable evidence, though not a definitive, that the fully expanded mature leaf which shows maximum NR activity leading to maximum protein content can be used for successful rearing of young silkworms. In support of this, our results revealed that feeding does not depend upon the nutrient, protein and age of foliage but maybe on some other properties of the leaves like leaf texture and toxic substances. It would be worthwhile to approach for investigation of foliage of food plant in more detail.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to acknowledge Drs S. Mathavan and M. Krishnan for their critical comments and help in preparing this manuscript. We thank Mr G. Kandasamy and Ms T.S. Manjula for their conscientious technical assistance. Financial support by the Department of Environment -Government of India, New Delhi- to KP is gratefully acknowledge.

REFERENCES

- ADAMOWICZ S. (1980), Mise en évidence des "pools" de nitrates par la méthode de mesure *in vivo* de la nitrate réductase. *Physiol. Veg.*, 18, 453-461.
- BILAL I.M., RAINS D.W. (1973), *In vivo* characterization of nitrate reductase activity in cotton. *Physiol. Plant.*, 28, 237-243.
- BLACQUIERE T. (1986), Nitrate reduction in the leaves and numbers of nitrifiers in the rhizosphere of *Plantago lanceolata* growing in two contrasting sites. *In* Fundamentals, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants (Eds.) H. Lambers, J.J. Neeteson and I. Stulen, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 347-350.
- CATES R. (1980), Feeding patterns of monophagous, oligophagous and polyphagous insect herbivores : The effect of resource abundance and plant chemistry. *Oecologia*, 46, 22-31.
- CHOCKALINGAM S., KRISHNAN M. (1984), Influence of foliage age on food utilization in the final instar larva of a monophagous and a polyphagous insect pest. *J. Adv. Zool.*, 5, 1-9.
- CHOPRA R.H. (1983), Effects of temperature on the *in vivo* assay of nitrate reductase in some C₃ and C₄ species. *Ann. Bot.*, 51, 617-620.
- CLARKSON D.T. (1986), Regulation of the absorption and release of nitrate by plant cells : A review of current ideas and methodology. *In* Fundamentals, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants. (Eds.) H. Lambers, J.J. Neeteson and I. Stulen. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 3-27.
- DATTA N., MUKHERJEE S.G., SOPORY K.S. (1985), Effect of intermediates of photosynthesis, respiration and photorespiration of potassium nitrate and ammonium nitrate induced nitrate reductase activity in wheat. *Indian J. Exp. Biol.*, 23, 514-517.
- DENNO R.F., DONNELLY M.A. (1981), Patterns of herbivory on passiflora leaf tissues and species by generalized and specialized feeding insects. *Ecol. Entomol.*, 6, 11-16.

- DUSKY J.A., GALITZ D.S. (1977), Nitrate reduction in different grass species. *Physiol. Plant.*, 39, 215-220.
- FENNY P.P. (1976), Plant apparency and chemical defense. *In* Biochemical interaction between plants and insects. (Eds.) C.J. Wallace, R. Mansell. Rec. Adv. Phytochem., New York, London, Plenum Press, 10, 1-40.
- FERRARI T.E., YODER O.C., FILNER P. (1973), Anaerobic nitrite production by plant cells and tissues : evidence for two nitrate pools. *Plant Physiol.*, 51, 423-431.
- GILBERT L.E. (1979), Development theory in the analysis of insect-plant interaction. *In* Analysis of ecological systems. (Eds.) D. Horn *et al.*, Ohio State University Press, Columbus, 117-154.
- GORDON H.T. (1961), Nutritional factors in insect resistance to chemicals. *Annu. Rev. Entomol.*, 6, 27-54.
- HALLMARK W.B., HUFFACKER R.C. (1978), The influence of ambient nitrate, temperature and light on nitrate assimilation in Sudan grass seedlings. *Physiol. Plant.*, 44, 147-152.
- HARPER J.E., HAGEMAN R.H. (1972), Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans. *Plant Physiol.*, 49, 146-154.
- JAWORSKI E.G. (1971), Nitrate reductase assay in intact plant tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43, 1274-1279.
- JONES R.W., SHEARD R.W. (1977), Conditions affecting *in vivo* nitrate reductase activity in chlorophyllous tissues. *Can. J. Bot.*, 55, 896-901.
- KAILASH P., MUTHUCHELIAN K., KARUNAICHAMY K., RAO R.K., GNANAM A. (1986), Ecophysiological studies of some C₃ woody biomass species and C₄ fodder grasses. *In* Proc. semi. on ecodevelopment of western ghats, Pecchi, Kerala, India, 148-152.
- KANNANGARA C.G., WOOLHOUSE H.W. (1967), The role of CO₂, light and nitrate in the synthesis and degradation of nitrate reductase in leaves of *Perilla frutescens*. *New Phytol.*, 66, 553-561.
- KLEPPER L., FLESHER D., HAGEMAN R.H. (1971), Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. *Plant Physiol.*, 48, 580-590.
- LAWRENCE J.M., HERRICK H.E. (1982), Media for *in vivo* nitrate reductase assay of plant tissues. *Plant Sci. Lett.*, 24, 17-26.
- LIN W.H., KAO C.H. (1980), Factors affecting *in vivo* nitrate reductase activity in triticale. *Physiol. Plant.*, 48, 361-364.
- MAECK G., TISCHNER R. (1986), Nitrate uptake and reduction in sugar-beet seedlings. *In* Fundamentals, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants. (Eds.) H. Lambers, J.J. Neeteson and I. Stulen. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 33-36.
- MATTSON W.J. (1980), Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 11, 119-161.
- MORGON M.A., JACKSON W.A., PAN W.L., VOLK R.J. (1986), Partitioning of reduced-nitrogen derived from exogenous nitrate in maize roots : Initial priority for protein synthesis. *In* Fundamental, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants. (Eds.) H. Lambers, J.J. Neeteson and I. Stulen. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 181-185.
- MUTHUCHELIAN K., PALIWAL K., GNANAM A. (1986), Physiological studies of two fast growing tree species in semi-arid eco-climate at Madurai. *The Indian Forester*, 112, 814-818.
- NICHOLAS J.C., HARPER J.E., HAGEMAN R.H. (1976), Nitrate reductase activity in soybeans (*Glycine max* (L) Merr.). *Plant Physiol.*, 58, 731-755.
- OAKS A., HIREL B. (1985), Nitrogen metabolism in roots. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 36, 345-365.
- RHOADES D., CATES R. (1976), Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *In* Biochemical interaction between plants and insects. (Eds.) C.J. Wallace, R. Mansell. Rec. Adv. Phytochem., New York, London, Plenum Press, 10, 168-213.
- SMILEY J. (1978), Plant chemistry and the evolution of host specificity : New evidence from *Heliconius* and *Passiflora*. *Science*, 201, 745-747.
- SMITH J.L., RICE E.L. (1983), Differences in nitrate reductase activity between species of different stages in old field succession. *Oecologia*, 57, 43-48.
- SRIVASTAVA H.S. (1980), Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phyto Chemistry*, 19, 725-753.

TINGEY D.T., FITES R.C., BAHARSJAH J. (1974), Factors influencing nitrate reduction in soybean foliage. *New Phytol.*, 73, 21-29.

VENKATARAMANA S., RAMADAS V.S. (1985), Nitrate reductase activity in relation to respiration and photosynthesis in certain C₄ plants. *Indian J. Expt. Biol.*, 23, 460-463.

FACTEURS INFLUENCANT LES MESURES DE L'ACTIVITE DE LA NITRATE REDUCTASE (EC 1.6.6.1) *IN VIVO* CHEZ LES FEUILLES DE MURIER (*MORUS ALBA* L.)

K. PALIWAL & M. ILANGO VAN

Department of Plant Sciences, School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, Inde.

*La réduction du nitrate chez le mûrier (*Morus alba*) basée sur le poids de la feuille fraîche est mesurée *in vivo* par spectrophotométrie en fonction de l'âge de la feuille. L'activité de la nitrate réductase (NR) est maximum chez la feuille entièrement développée [$5,686 \mu\text{moles (poids frais en grammes)}^{-1} \text{h}^{-1}$] suivi de [$3,254 \mu\text{moles (poids frais en grammes)}^{-1} \text{h}^{-1}$] pour les feuilles tendres et de [$0,140 \mu\text{moles (poids frais en grammes)}^{-1} \text{h}^{-1}$] chez la feuille sénescence. Une série d'expériences a été réalisée afin de déterminer certaines des propriétés apparentes de la nitrate réductase. La réaction la plus forte à l'addition de nitrate est obtenue par l'application de 100 mM KNO_3 dans le milieu. La température optimale d'incubation pour une activité maximum de la nitrate réductase est de 40°C et le pH optimum du milieu est de 7,0. L'activité de la nitrate réductase est linéaire en fonction du temps d'incubation et de la quantité de tissu foliaire. L'inclusion d'un solvant organique, triton X-100 (0,1 % v/v) seul ou triton X-100 (0,2 % v/v) combiné avec du n-propanol (1% v/v), accentue nettement la vitesse de réduction du nitrate par rapport aux autres solvants organiques testés. La variation du contenu en éléments nutritifs et la sélection par la larve de la feuille en fonction de l'âge sont discutées.*

INTRODUCTION

Bien que l'on connaisse le taux et la forme de l'azote provenant des sols de divers types de végétation (Blacquièr, 1986), il existe relativement peu d'informations sur la forme de l'azote utilisé par chaque plante dans son environnement naturel. Les études sur l'assimilation de l'azote se heurtent au problème de la capacité de la plante à fixer l'azote atmosphérique et à réduire le nitrate. La réduction du nitrate en nitrite est catalysée par une enzyme, la nitrate réductase (NR, EC 1.6.6.1), qui se situe dans le cytosol. La forme la plus commune de l'enzyme chez les plantes supérieures nécessite le NADH comme réducteur (Oaks et Hirel, 1985). L'induction du système d'assimilation du nitrate dépend de la concentration extérieure en nitrate. Le métabolisme du nitrate est régi par l'absorption de nitrate car l'activité nitrate réductase (NR) est présente chez les plantes qui n'ont pas de système d'assimilation du nitrate (poussant sans nitrate). Ceci prouve que la NR synthétisée aux premiers stades du développement de la plante est une enzyme constitutive et ne dépend pas de l'absorption de nitrate. Cependant, dès l'induction du système d'assimilation du nitrate, l'activité de la nitrate réductase est directement influencée par les taux de nitrate absorbés (Maeck et Tischner, 1986). L'âge de la plante et de la feuille affecte l'induction de nitrate réductase (Kannangara et Woolhouse, 1967 ; Harper et Hageman, 1972). La synthèse de protéines contenant de l'azote issu du nitrate consommé se fait en étroite association avec le processus de réduction lui-même (Morgan et coll., 1986).

La qualité de la plante varie suivant la forme de croissance et l'âge de la feuille (Smiley, 1978 ; Denno et Donnelly, 1981) avec des effets marqués sur sa consommation par les herbivores (métabolisme et taux de croissance). Rhoades et Cates (1976) suggèrent que les animaux spécialisés préfèrent un feuillage jeune, étant plus facile à digérer et souvent plus nourrissant. Les feuilles âgées

(non sénescentes) contiennent moins de toxines bien qu'elles soient plus difficiles à digérer (Gordon, 1961).

Peu d'études ont été publiées sur le métabolisme du nitrate chez *Morus alba* L., bien que la fertilisation au nitrate affecte directement la croissance de la plante et ait, de ce fait, un intérêt économique et agricole. Le présent article aborde le taux de réduction du nitrate comme une fonction de l'âge de la feuille ainsi que les divers facteurs qui influencent l'activité de la nitrate réductase *in vivo* chez les feuilles de mûrier *Morus alba* L. L'activité de la nitrate réductase *in vivo* sert d'indicateur de la présence du nitrate et permet d'identifier le stade de la feuille adapté aux jeunes larves de ver à soie qui ont besoin de feuilles ayant un contenu maximal en protéines.

MATERIELS ET METHODES

Les boutures de *Morus alba* L. (mûrier) sont cultivées dans des pots en terre contenant du terreau. On ajoute une solution de Hoagland à demi concentrée contenant 10 mM KNO₃. Les pots sont maintenus en extérieur (température de l'air 30 ± 2°C, humidité relative 60 ± 5 %, radiation solaire à 800 ± 100 w/m², photopériode de 14 h).

Activité de la nitrate réductase *in vivo* (EC 1.6.6.1) :

Les feuilles de boutures âgées de 30 jours sont prélevées pour définir le dosage *in vivo* suivant la méthode de Jaworski (1971). Après leur avoir ôté les nervures et les veines, on les coupe en morceaux de 1 mm, elles sont ensuite mélangées, pesées (200 mg) et incorporées dans un milieu d'incubation de 5 ml composé de 100 mM KH₂PO₄ (pH 7,0), 100 mM KNO₃, du n-propanol à 1 % (v/v) contenu dans des fioles en verre de 10 ml. Celles-ci sont conservées sous vide et reliées à une pompe à vide par un robinet d'arrêt à deux voies. L'évacuation et la réadmission de l'air se font en alternance pendant 2 minutes au cours desquelles le tissu se trouve complètement immergé. Les fioles sont débranchées et incubées à l'obscurité pendant 60 minutes et portées occasionnellement à 28 ± 2°C. Les aliquotes appropriées sont prélevées en vue de l'évaluation du nitrite. Le nitrite est mesuré après colorisation du complexe avec 1 ml de sulfanilamide à 0,1 % dans de l'HCl à 2 N et 1 ml de dihydrochlorure N-naphthyl éthylène diamine à 0,1 %. L'absorption est lue à 540 nm dans un spectrophotomètre (LKB, biochrome, Ultrospec II) et comparée aux étalons nitrite préparés dans le milieu d'incubation. L'activité de la nitrate réductase est exprimée en micromoles de NO₂⁻ formées par gramme de poids frais et par heure.

RESULTATS

Les auteurs ont tenté de déterminer l'activité de la nitrate réductase à différents âges dans la feuille de *Morus alba* L. La feuille mature entièrement développée donne une activité maximum tandis que l'activité enzymatique tombe au fur et à mesure que la feuille vieillit. Par rapport à la feuille tendre, la feuille mature montre une augmentation de 175 % de l'activité de la nitrate réductase. La feuille sénescence montre une diminution de 3 % de l'activité de la nitrate réductase par rapport à la feuille mature (tableau I).

L'effet de l'addition de différentes concentrations de nitrate au milieu expérimental est montré sur la figure 1. L'addition de nitrate dans le milieu expérimental augmente l'activité de la nitrate réductase. L'augmentation de la concentration de nitrate accroît l'activité jusqu'à 100 mM. L'augmentation de l'activité de la nitrate réductase est de 246, 428, 595 et 634 % pour l'addition de 10, 25, 50 et 100 mM respectivement de nitrate extérieur dans le milieu expérimental. Un apport abondant de nitrate extérieur supérieur à une concentration de 100 mM diminue l'activité de la nitrate réductase. Le pH optimum pour l'activité de la nitrate réductase est de 7,0. L'activité enzymatique diminue de manière significative au-dessus ou au-dessous d'un pH de 7,0, le pH acide étant plus performant que le pH alcalin (Fig. 2). On observe que l'activité enzymatique varie en fonction de la température d'incubation, la température optimale étant de 40°C. A 50°C, l'activité enzymatique est inhibée à 32 % (Fig. 3). Il existe une relation linéaire entre l'activité enzymatique et le temps de réaction entre 0 et 120 minutes (Fig. 4). On note également une relation linéaire entre l'activité de la nitrate réductase et le poids du tissu (Fig. 5). Des neuf solvants organiques ajoutés au milieu

d'incubation contenant le nitrate optimal (100 mM), le triton X-100 (0,1 % v/v) est le plus efficace, suivi du n-propanol, de l'éthanol, du méthanol et de l'isopropanol. Une augmentation de 550 % de l'activité *in vivo* de la nitrate réductase apparaît dans le milieu d'incubation avec le triton X-100. Les autres solvants organiques testés - à savoir, le chloroforme et le benzène - inhibent très nettement l'activité de la nitrate réductase (tableau II). L'addition de n-propanol à 1 % (v/v) et de triton X-100 à 2 % (v/v) augmente fortement l'activité de la nitrate réductase alors que les autres concentrations font diminuer l'activité de la nitrate réductase de manière significative (tableau III). La combinaison du triton X-100 (0,2 % v/v) et du n-propanol (1 % v/v) renforce également l'activité de la nitrate réductase (tableau IV).

DISCUSSION

L'activité enzymatique est fonction des différents âges physiologiques de la feuille. Les différences marquées de l'activité enzymatique aux différents âges de la feuille observées par d'autres auteurs (Nicholas et coll., 1976 ; Srivastava, 1980 ; Kailash Paliwal et coll., 1986 ; Muthuchelian et coll., 1986) corroborent nos observations. L'activité enzymatique maximale chez la feuille entièrement développée pourrait être due à son activité photosynthétique très élevée et à sa facilité de consommation d'éléments nutritifs (Kannangar et Woolhouse, 1967 ; Kailash Paliwal et coll., 1986) ou à un niveau enzymatique élevé (Nicholas et coll., 1976). La capacité des feuilles jeunes mais physiologiquement matures à synthétiser la nitrate réductase dans des quantités plus importantes que les autres feuilles peut s'expliquer par la fixation renforcée de CO₂ et augmenter la synthèse des protéines (Bilal et Rains, 1973 ; Srivastava, 1980).

L'effet de la concentration en nitrate dans le milieu d'incubation sur l'activité *in vivo* est présenté à la figure 1. L'augmentation de l'activité indique que la disponibilité en nitrate pour l'enzyme est limitée et que 100 mM de nitrate extérieur est la dose nécessaire pour saturer l'enzyme. L'activité enzymatique réduite, mesurée en l'absence de nitrate extérieur, montre que, malgré une induction appropriée de l'activité de la nitrate réductase chez les feuilles, une quantité importante de nitrate endogène n'est pas accessible à moins que l'on ajoute du nitrate de l'extérieur. Ferrari et coll. (1973) ont observé que les plantes supérieures contiennent en général des réservoirs métaboliques et de stockage du nitrate. Ainsi, le renforcement de l'activité *in vivo* de la nitrate réductase par l'addition de nitrate extérieur pourrait être dû à l'augmentation de l'accessibilité au nitrate par l'enzyme (Tingey et coll., 1974). Chez *Morus alba* L., la diminution de l'activité de la nitrate réductase avec une concentration de nitrate extérieur au-delà de l'optimum est conforme aux observations antérieures (Klepper et coll., 1971 ; Dusky et Galitz, 1977 ; Lin et Kao, 1980 ; Datta et coll., 1985 ; Venkataramana et Ramadas, 1985 ; Clarkson, 1986). Dans la mesure où l'activité des enzymes varie en fonction du pH, tout changement du pH cellulaire peut se traduire par des modifications importantes de l'équilibre relatif entre les voies métaboliques.

La diminution de l'activité *in vivo* de la nitrate réductase à un pH supérieur ou inférieur à l'optimum pourrait confirmer cette hypothèse, outre les alternances induites par le pH dans la fixation du co-facteur ou du substrat de l'enzyme et la sensibilité de cette enzyme et/ou du co-facteur (Jones et Sheard, 1977 ; Hallmark et Huffacker, 1978 ; Lawrence et Herrick, 1982 ; Smith et Rice, 1983). Les résultats sur les effets du pH et de la température sur l'activité *in vivo* de la nitrate réductase mettent en évidence la sensibilité de l'enzyme à des pH et des températures extrêmes. L'inactivation thermique et la variation de la sensibilité à l'acide en fonction de l'enzyme et du pH observées dans la présente étude sont conformes à d'autres résultats obtenus sur les plantes de culture (Chopra, 1983). La relation linéaire entre l'activité de la nitrate réductase et le temps de réaction et entre celle-ci et le poids du tissu ont été observés dans des expériences concernant d'autres espèces (Bilal et Rains, 1973 ; Dusky et Galitz, 1977 ; Lin et Kao, 1980).

Les résultats rapportés ici montrent que les alcools monohydroxyl déclenchent la production de nitrite dans les fragments des feuilles. Il a été suggéré que la fonction de ces additions de solvants organiques au milieu expérimental était d'augmenter la perméabilité des membranes (Jaworski, 1971 ; Nicholas et coll., 1976 ; Jones et Sheard, 1977) et de réduire la tension de surface, permettant ainsi un meilleur contact entre le tissu et le milieu (Jones et Sheard, 1977). De plus, l'effet du triton X-100 combiné avec le n-propanol est dû au transfert du nitrate (substrat) du réservoir de

stockage vacuolaire vers un réservoir cytoplasmique actif accessible à l'enzyme (Ferrari et coll., 1973 ; Adamowicz, 1980 ; Lawrence et Herrick, 1982).

Le dosage *in vivo* décrit ici est un moyen simple et rapide pour déterminer l'activité enzymatique. Cette méthode permet une détermination fiable de l'activité *in vivo* de la nitrate réductase dans les tissus quelles que soient les conditions physiologiques.

Une larve nourrie avec un aliment qui a perdu sa qualité nutritive (c'est-à-dire, avec un contenu faible en azote total de la feuille) peut subir une réduction de ses taux d'alimentation et de croissance, soit parce qu'elle décide de ne pas se nourrir plus vite ou soit parce qu'elle n'a pas la capacité de se nourrir plus vite (peut-être en raison d'une augmentation du temps de rétention de la nourriture dans son intestin) (Mattson, 1980). Tous les herbivores spécialisés étudiés précédemment (Fenny, 1976 ; Gilbert, 1979 ; Cates, 1980 ; Chockalingam et Krishnan, 1984) ont une préférence marquée pour les jeunes feuilles, qui sont plus nutritives mais potentiellement plus toxiques que les feuilles d'âge moyen ou avancé. Les avis sont partagés sur la préférence des larves pour les feuilles jeunes ou âgées (non sénescentes). Le fait que les feuilles de mûrier entièrement développées (feuilles âgées mais non sénescentes) manifestent une activité maximum de la nitrate réductase peut être dû à une plus grande capacité de consommation d'éléments nutritifs (Kannangara et Woolhouse, 1967 ; Kailash Paliwal et coll., 1986) et à une augmentation de la synthèse des protéines (Bilal et Rains, 19773 ; Srivastava, 1980). En résumé, les données présentées dans cet article constituent une preuve fiable bien que non définitive que la feuille entièrement développée, qui manifeste une activité maximum de la nitrate réductase, donne un contenu maximum en protéines qui peut permettre d'optimiser l'élevage des jeunes vers à soie. A l'appui de cette hypothèse, nos résultats révèlent que le nourrissage des larves ne dépend pas des éléments nutritifs, des protéines ou de l'âge de la feuille mais peut-être de certaines autres propriétés des feuilles comme la texture de la feuille et les substances toxiques. Il serait intéressant d'approfondir l'étude du feuillage des plantes nourricières.

CHEMICAL CONTROL OF THE MULBERRY THIRPS, *PSEUDODENDROTHRIPS MORI* (NIWA)

YE Y.-B. & GU Z.-F

Sericulture Research Institute, The Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City,
Jiangsu Province, China.

The mulberry thrips, Pseudodendrothrips mori (Niwa), is one of the serious insect pests in most sericultural districts of some countries. The present paper deals with its seasonal population trends, life history and the detrimental effects it causes to sericulture. Finally, a chemical control method is proposed.

Keywords : Thrips, mulberry thrips, rogor, omethoate.

INTRODUCTION

The mulberry thrips, *Pseudodendrothrips mori* (Niwa), is distributed in the sericultural districts of China, Japan, India and is also reported in Sri Lanka, Vietnam and other Southeast Asian countries (FAO, 1976). In China, there is nearly no mulberry tree but is frequented or infected by this thrips.

Individual symptoms :

The damage caused by this thrips on a single leaf blade is that the thrips, using its mouthparts, rasps the epidermis on the ventral side of the leaves, forming numerous tiny dots of wounds, and sucks the sap of the leaves through these wounds. The usual evaporation process of the leaves is quickened, especially during high temperature seasons, by additional evaporation through these wounds. The highest number of thrips per leaf may even exceed one thousand. So, finally the leaves are dwindled dry just like a piece of kraft paper, being unfit to be used to feed silkworms.

Mass symptoms :

During summer and autumn seasons, if the canopy of a densely planted mulberry plantation, seen from afar, is divided into three strata, the top stratum being fresh green in colour, the middle stratum being greyish-brown kraft paper-like and the lower stratum dark green, the damage caused by this thrips may be virtually diagnosed. The tender leaves on the top part of the shoot only harbour eggs laid by winged adult thrips which tend to flock on to the top part of the shoot. No harm has been done by any larva to these leaves yet, so they are fresh green in their innate colour. As the shoot grows or elongates, the original top part becomes the upper-middle part of the shoot, the eggs hatch and the larvae remain on the ventral surface of the very leaf they hatched on and work their damage, dwindling away the water content and the nutrients from the leaves. The leaf quality deteriorating process is also quickened by evaporation during high temperature seasons. This accounts for the brown-greyish colour of the said middle stratum. The crisp leaves of the lower dark green stratum were formed (grown) no longer after summer pruning, the time when the thrips was of a low population level and caused negligible harm, so the leaves could be kept green. Also, during the summer-autumn season, nearly no adult or larval thrips would injure the 'aged', dark green and crisp leaves of the lower stratum.

Damage to sericulture :

The leaves growing on the middle and upper-middle parts of the shoot are of such a degree of maturity that when used as food for silkworms they are beneficial to their health and development. Unfortunately these are the same leaves which the thrips causes severe damage to. So, in autumn season, the silkworm rearers always feel there is almost no ideal leaf to pick. This may partly account for the lower yield of autumn cocoon crop if the thrips is not properly controlled.

MATERIALS AND METHODS

Environments as factors affecting the seasonal population trends :

The investigations were conducted on mulberry orchards of two different current mulberry varieties of *Morus multicaulis* Perr. (Husang 32 and Tungshiangchin), of different topographic features (on a hill top or at the foot of the hill) and of different pruning ways (spring pruning, summer pruning and non pruning). The population sizes of the various orchards were counted and recorded every half a month from April 19 to the end of October.

Life history :

The method used was to rear the larvae beginning with the newly hatched larvae which were transferred from the orchard to a set of microcells fixed on the leaf blades of the potted seedlings. One individual thrips was reared in one microcell. The developing larvae in every microcell were examined daily both visually and microscopically.

Insecticide screen tests :

The screen tests were conducted on saplings or on medium-cut grown-up trees. Field tests were conducted on plots of grown-up mulberry plantations with 54-81 individual plants within each plot. The population size changes before and after spraying were recorded.

Residual toxicity to silkworms :

The silkworm variety used was Yinhan × Huajiu. The sample cocoons were sent to a filature to undergo the routine silk quality and quantity character check procedure.

RESULTS

Seasonal population trends :

According to the investigations made on the plots of non pruning and summer pruning, we may know the thrips natural seasonal population trends which are : 'After summer pruning, the population size drops abruptly. Peak population size is in August. After late September, population size invariably declines naturally'. This natural trend is also true on the plots of different topographic features. The differences between spring pruning and non pruning were that in the former condition the leaves unfolded later and the population level rose up later than the latter. Later, because the leaves of the former were tender and fresh and were fit to be used as food for thrips, the thrips population level soon exceeded the latter.

Life history :

The larval stage lasted 8-12 days. The pupal stage lasted 2-3 days. The length of both larval and pupal stages varied inversely with the temperature. Length of the adult stage : During May, the adults escaped from the microcells 10 or 15 days after their emergence. During June the adult stage lasted 7-12 days after their emergence. During July the adult stage lasted 8-9 days. During August it lasted 6 days.

Insecticide screen tests :

In 1960, in a screen test against this thrips with some insecticides, we discovered that Rogor ranked first in terms of the length of its residual toxicity period to this thrips, being 7 days in length. During the years from 1960 through 1985, persevering work had been done with a view to finding

whether there were any other insecticides the length of residual toxicity period of which could be equal to or even exceed 7 days. But much work proved to be in vain. During those years, the only insecticide we found -the length of its residual toxicity period to this thrips can be of even more than one month- was Abate but, to our disappointment, the length of the residual toxicity period of Abate to the silkworm far exceeded the larval stage of the silkworm. So, the sprayed leaves would be rendered useless to the silk industry. In 1986, we found that Omethoate might serve as a substitute for Rogor to control this thrips (Table I). But Phoxim and Omethoate were, for some unknown reason, inferior to Rogor in their capability to ameliorate the leaf quality.

Residual toxicity to silkworms :

The length of the period of residual toxicity of 40 % Rogor emulsifiable concentrate (E.C.), diluted 1,000 times with water, to silkworms was 7 days after being applied onto the mulberry leaves and that of 40 % Omethoate E.C. at the same dilution was 12 days. After the period of residual toxicity was over, the mulberry leaves could be picked to feed silkworms without any bad effects on the larvae, cocoons and silk.

Table I. Periods of residual toxicity of some insecticides to mulberry thrips.

Tableau I. Durée de la toxicité résiduelle de certains insecticides contre les thrips du mûrier.

	Times of dilution with water (times)	Mortality of thrips (%)	Length of the period of residual toxicity to thrips larvae (days)
	<i>Taux de dilution dans l'eau (nombre de fois)</i>	<i>Mortalité des thrips (%)</i>	<i>Durée de la toxicité résiduelle contre les larves de thrips (en jours)</i>
6 % BHC wettable powder <i>6 % poudre BHC</i>	500	100	2-3
70 % Dipterex	1,000	100	2-3
50 % Malathion E.C.	1,000	99.3	2
40 % Rogor E.C.	1,000	100	7
50 % Dichlorvos E.C.	1,000	100	1
50 % Phoxim E.C.	3,000	100	6-7
50 % Abate E.C.	2,000	100	32
40 % Omethoate E.C.	1,000	100	7-8

DISCUSSION

The adult thrips lay their eggs under the epidermis on the ventral side of the mulberry leaf. Especially during high temperature seasons, on the ventral side of each mature leaf, lots of newly hatched thrips, being icy coloured, emerge every day through the epidermis and remain on the ventral surface of the very leaf they hatched on, crawling and doing harm to the leaf. As the larvae begin to ingest food, their colour turns from icy to turbid greenish yellow. As it is required specifically to control this insect, an ideal insecticide ought not only to bring 100 % mortality to the thrips already hatched or already present at the moment of spraying on the ventral surface of the leaves but also be able to kill the larvae that are about to hatch after the spraying while the hatching process is still being undergone or has just finished. So, on the next day after spraying, we may find that none of the larvae on the ventral surface of the leaf are alive except a few tiny, flimsy and icy-coloured newly hatched larvae, not having ingested any food yet and which are crawling about before dying or are dying. Within the residual toxicity period of time, besides the dead remains of the thrips, all the living larvae we could find on the ventral side of the sprayed leaves were all newly-hatched icy-coloured ones. The residual toxicity period terminates with the day when the first turbid greenish yellow or brownish yellow coloured larva appears. That is to say, because the residual toxicity period is over, the larva can ingest food without incurring death and can survive overnight. So the criteria for us to judge the relative effectiveness of a certain insecticide to this specific thrips is the mortality and the relative length of the period of its residual toxicity to this thrips.

Though some insecticides such as Dichlorvos, Dipterex and Malathion at their reasonable concentration can bring 100 % mortality to the thrips already present and may have one or two days of residual toxicity, they are still not fit to be used to control this thrips. That is to say, it is tactically right but it is strategically questionable to use these chemicals. The reasons are : (1) During high temperature seasons, sheer magnitude of thrips population already exists on vast areas of mulberry orchards and, in addition, every day lots of newly-hatched larvae turn out (emerge) through the epidermis to augment the existing population. The insecticides mentioned above can effect control for only 1 or 2 days and only for the sprayed areas. After such a short interval of around two days, and after the dispersal of the winged adults from unsprayed orchards, the thrips population on the sprayed area will increase at a swift tempo and quickly restore to its original population size. It is just like a Chinese proverb which says : it is useless 'to use a cup of water to quench the burning of a wagon's load of dry wood'. The farmers still cannot perceive any amelioration in the leaf quality deteriorated by the thrips. (2) Because the thrips infestations occur during whole mulberry growing season, it is not economical to spray every other day in such a long run ; and (3) During summer and autumn silkworm rearing seasons (i.e. summer, early autumn, mid-autumn and late autumn rearing seasons), the time when the thrips infestations are the most severe, it would be better, from the point of view of silkworm rearers, not to spray any insecticide or at least not to spray often on the mulberry orchard. After taking into consideration all the factors of seasonal thrips population trends, silkworm rearing seasons, the performance of some insecticides and the residual toxicity periods of these insecticides, we arrived at a spraying schedule : to spray 40 % Rogor emulsifiable concentrate, diluted 1,000 times with water, in late July and then repeat once in mid-August. The sprayed leaves can be picked to feed silkworms no earlier than the seventh day after spraying. The quality of the mulberry leaves during summer-autumn season can be improved through this control method. The leaf analysis showed that the non-protein nitrogen, the crude protein and the glucose contents of the sprayed leaves are 1.37 %, 29.00 %, 1.90 % ; while those of the control leaves are 0.82 %, 26.00 %, 1.85 % respectively. Omethoate may be used as a second resort, once the thrips get resistant to Rogor.

REFERENCES

- FAO (United Nations) (1978), Sericulture manual : 1. Mulberry cultivation. FAO Agr. Bull., FAO, Rome, Italy, 79-80.
 ZHU R.-Z. (1961), Mulberry thrips. Moriculture. 1st Ed., Shangai Sc. Tech. Publishing Hse., 233-234.

TRAITEMENT CHIMIQUE CONTRE LE THRIPS DU MURIER *PSEUDODENDROTHRIPS MORI* (NIWA)

YE Y.-B. & GU Z.-F.

Sericultural Research Institute, The Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City,
Jiangsu Province, Chine.

Le thrips du mûrier Pseudodendrothrips mori (Niwa) est l'un des principaux insectes parasites dans la plupart des régions sérícicoles de certains pays. Le présent article expose les variations saisonnières de sa population, son cycle de vie et ses effets néfastes sur la séríciculture. En dernier lieu, une méthode de traitement chimique est proposée.

INTRODUCTION

Le thrips du mûrier *Pseudodendrothrips mori* (Niwa) est répandu dans les régions sérícicoles de Chine, du Japon et de l'Inde ; sa présence est également signalée au Sri Lanka, au Vietnam et dans d'autres pays du sud-est asiatique (F.A.O., 1976). En Chine, pratiquement tous les mûriers sont fréquentés ou infestés par ce thrips.

Symptômes individuels :

Le thrips peut endommager une seule face de feuille en rapant, au moyen de ses mandibules, l'épiderme de la surface inférieure, formant ainsi d'innombrables petites plaies, en suçant la sève des feuilles par ces orifices. Le processus habituel d'évaporation s'en trouve accéléré, particulièrement pendant la saison chaude. Le nombre maximum de thrips par feuille peut dépasser un millier. En fin de compte, les feuilles s'assèchent, se recroquevillent comme du papier kraft et deviennent impropres au nourrissage des vers à soie.

Symptômes d'ensemble :

Au cours de l'été et de l'automne, si le feuillage d'une plantation de mûriers dense, vue de loin, se divise en trois couches, la couche supérieure étant vert clair, la couche intermédiaire marron-grisâtre, et la couche inférieure vert foncé, on peut pratiquement diagnostiquer la présence du thrips. Les feuilles tendres de la partie supérieure de la tige hébergent uniquement les oeufs déposés par les adultes ailés qui tendent à se regrouper sur la partie supérieure de la tige. A ce stade, les larves n'ont encore fait aucun dommage aux feuilles, ces dernières conservent donc leur couleur vert clair originelle. Au fur et à mesure que la tige s'allonge ou grandit, lorsque la partie supérieure devient le haut de la partie intermédiaire, les oeufs éclosent et les larves restent sur la surface inférieure des feuilles sur lesquelles elles ont éclos et commencent à détériorer la feuille, épuisant son contenu en eau et en éléments nutritifs. En saison chaude, le processus de détérioration de la qualité de la feuille est également accéléré par l'évaporation. Ceci explique la couleur marron-grisâtre de ladite couche intermédiaire. Les feuilles craquantes de la couche inférieure vert foncé se sont formées (ont poussé) peu après la taille d'été, lorsque la population des thrips était encore à un faible niveau et causait un dommage négligeable ; de ce fait, les feuilles sont restées vertes. Au cours de la saison été-automne, pratiquement aucun adulte ni aucune larve n'endommage ces feuilles "âgées", vert foncé et craquantes de la couche inférieure.

Dommmages à la sériciculture :

Les feuilles qui poussent à la partie intermédiaire et sur le haut de la partie intermédiaire de la tige atteignent le degré de maturité idéal pour le nourrissage des vers à soie et favorisent leur santé et leur développement. Malheureusement, ce sont ces mêmes feuilles que les thrips endommagent gravement. Aussi, à l'automne, les éleveurs ont beaucoup de difficultés à trouver des feuilles de bonne qualité. Ceci pourrait expliquer en partie le faible rendement de la récolte de cocons d'automne si le thrips n'est pas correctement éliminé.

MATERIELS ET METHODES

L'environnement comme facteur de variation saisonnière de la population :

Les expériences sont conduites dans des mûraies de deux variétés communes de mûrier *Morus multicaulis* Perr. (Husang 32 et Tungshiangchin) qui diffèrent par les caractères topographiques (sommet de colline et pied de colline) et par les méthodes de taille (taille de printemps, taille d'été ou absence de taille). La population dans les différentes mûraies est répertoriée tous les quinze jours du 19 avril à la fin du mois d'octobre.

Cycle de vie :

On élève les larves dès leur éclosion et on les transfère de la mûraie sur des microcellules fixées sur des feuilles de plantules en pot. On élève un thrips par microcellule. On examine quotidiennement le développement des larves tant à l'oeil nu qu'au microscope.

Tests de sélection des insecticides :

Les tests de sélection sont effectués sur les plantules ou sur les arbres de taille moyenne ou adultes. Les tests en extérieur sont réalisés sur des parcelles de plantations de mûriers adultes contenant 54 à 81 plants individuels par parcelle. Les variations de population sont enregistrées avant et après les vaporisations.

Toxicité résiduelle pour les vers à soie :

La race de vers à soie utilisée est Yinhan × Huajiu. Les échantillons de cocons sont envoyés à la filature pour subir les contrôles systématiques des caractères quantitatifs et qualitatifs de la soie.

RESULTATS

Les expériences réalisées sur les parcelles taillées en été et sur les parcelles non taillées nous permettent de connaître les variations saisonnières des populations de thrips qui sont les suivantes : après la taille d'été, la densité de population tombe brusquement. La densité maximale apparaît en août ; après la fin septembre, invariablement, la densité de population décroît de façon naturelle. Cette tendance naturelle est vraie pour les parcelles des deux variétés de *Morus multicaulis* Perr étudiées et dans les parcelles dont la topographie est différente. Pour la taille, les feuilles des parcelles taillées se développent plus tard et le niveau de population augmente plus tard que pour les feuilles des parcelles non taillées. Plus tard, les feuilles des parcelles taillées au printemps étant plus tendres, fraîches et consommable par le thrips, la densité de population des thrips dépasse rapidement celle des parcelles non taillées.

Cycle de vie :

Le stade larvaire dure 8 à 12 jours. Le stade nymphal dure 2 à 3 jours. La longueur de ces deux stades varie en raison inverse de la température. Durée du stade adulte : en mai, les adultes sortent des microcellules 10 à 15 jours après l'émergence ; en juin, le stade adulte dure 7 à 12 jours après l'émergence ; en juillet, le stade adulte dure 8 à 9 jours ; en août, il dure 6 jours.

Tests de sélection des insecticides :

En 1960, au cours d'un test de sélection d'insecticides destinés à ce thrips, nous avons observé que le Rogor était le plus performant en ce qui concerne la durée (7 jours) de la toxicité résiduelle pour le thrips. De 1960 à 1985, nous avons continué nos expériences afin de savoir s'il existait d'autres insecticides dont la toxicité résiduelle pouvait égaler ou dépasser 7 jours. Cependant, nos recherches se sont révélées inutiles. Au cours de ces années, le seul insecticide que nous avons pu trouver dont la durée de toxicité résiduelle pour le thrips peut dépasser un mois était l'Abate, mais, nous avons eu la déception de constater que la durée de la toxicité résiduelle de l'Abate pour le ver à soie dépassait largement le stade larvaire, rendant ainsi les feuilles inutilisables pour l'industrie de la soie. En 1986, nous avons découvert que l'Ométhate pourrait remplacer le Rogor pour éliminer ce thrips (Tableau I). Cependant, le Phoxim et l'Ométhate ont, pour une raison indéterminée, une capacité d'amélioration de la qualité de la feuille inférieure à celle du Rogor.

Toxicité résiduelle pour les vers à soie :

La durée de la période de toxicité résiduelle pour le ver à soie du concentré émulsifiable (E.C.) à 40 % de Rogor dilué 1 000 fois dans l'eau est de 7 jours après application sur les feuilles de mûrier et celle du concentré émulsifiable à 40 % d'Ométhate au même degré de dilution est de 12 jours. Une fois la période de toxicité résiduelle terminée, les feuilles de mûrier peuvent être ramassées et peuvent être consommées par les vers à soie sans effets nocifs sur les larves, les cocons ou la soie.

DISCUSSION

Les thrips adultes pondent leurs oeufs sous l'épiderme de la surface inférieure de la feuille de mûrier. Principalement en saison chaude, d'innombrables thrips de couleur blanche émergent quotidiennement sur l'épiderme et restent sur la surface inférieure de la feuille sur laquelle ils ont éclos, se déplaçant en rampant et détériorant la feuille. Lorsque les larves commencent à ingérer de la nourriture, leur couleur vire du blanc au jaune-verdâtre sombre. L'insecticide idéal pour la lutte contre ce parasite devrait non seulement causer une mortalité de 100 % chez le thrips déjà éclos ou déjà présent sur la surface inférieure des feuilles au moment de la vaporisation, mais aussi tuer les larves sur le point d'éclore, après la vaporisation, au cours du processus d'éclosion ou lorsqu'il vient de se terminer. Ainsi, le jour suivant la vaporisation, on devrait pouvoir constater que les larves sur la surface inférieure des feuilles sont mortes, hormis quelques petites larves en sortie d'éclosion de couleur blanche et sans résistance qui n'ont pas encore ingéré de nourriture, se déplaçant avec difficulté avant de mourir ou en train de mourir. Pendant la période de toxicité résiduelle, outre les cadavres des larves, les larves encore en vie que l'on peut voir sur la surface inférieure des feuilles traitées sont toutes en sortie d'éclosion et ont la même couleur blanche. La période de toxicité résiduelle est terminée lorsque la première larve de couleur jaune-verdâtre sombre apparaît. En d'autres termes, du fait que la période de toxicité est terminée, la larve peut ingérer de la nourriture sans risque de mourir et peut survivre jusqu'au lendemain. Aussi, nos critères d'évaluation de l'efficacité relative d'un insecticide donné sur ce thrips sont la mortalité et la longueur relative de la période de toxicité pour ce thrips.

Bien que certains insecticides tels que le Dichlorvos, le Dipterex et le Malathion puissent causer, à la concentration adéquate, une mortalité de 100 % chez le thrips déjà présent et peuvent avoir une période de toxicité résiduelle d'un à deux jours, ils ne sont pas adaptés à la lutte contre ce thrips. C'est-à-dire qu'il est tactiquement correct mais stratégiquement discutable d'utiliser ces produits chimiques pour les raisons suivantes : (1) au cours de la saison chaude, l'ampleur même de la population de thrips fait qu'ils sont présents sur de grandes étendues de mûraies et, de plus, tous les jours de nouvelles larves apparaissent (émergent) par l'épiderme pour accroître la population déjà existante. Les insecticides décrits plus haut permettent de lutter contre le parasite pendant seulement un à deux jours et uniquement sur les surfaces traitées. Après un intervalle aussi court d'environ deux jours et après la dispersion des adultes ailés des mûraies non traitées, la population de thrips sur les surfaces non traitées augmente rapidement et revient bientôt à sa densité initiale. Ceci rappelle le proverbe : il est inutile "d'essayer d'écindre une charretée de bois sec en feu avec une tasse d'eau". Les fermiers ne peuvent pas constater la moindre amélioration de la qualité de la feuille détériorée

par les thrips. (2) Les infestations de thrips se produisant tout au long de la saison de croissance des mûriers, il est onéreux de les traiter tous les deux jours sur une période aussi longue. (3) Au cours des élevages d'été et d'automne des vers à soie, (c'est-à-dire les élevages été-début automne, mi-automne et fin automne), à l'époque où les infestations par les thrips sont les plus importantes, il serait plus rentable, du point de vue des sériciculteurs, de ne vaporiser aucun insecticide où, du moins, de ne pas vaporiser trop souvent sur les mûriers. Compte tenu de tous ces facteurs, à savoir variations saisonnières des populations de thrips, saisons d'élevage des vers à soie, performance de certains insecticides et durée de la toxicité résiduelle de ces insecticides, nous proposons le plan de traitement suivant : vaporisation de concentré émulsifiable de Rogor à 40 % dilué 1 000 fois dans l'eau à la fin du mois de juillet et nouvelle vaporisation en août. Les feuilles traitées ne peuvent pas être ramassées à moins de sept jours du traitement. La qualité des feuilles de mûrier au cours de la saison été-automne peut être améliorée par cette méthode de lutte. L'analyse des feuilles montre que les contenus en azote non-protéique, en protéines brutes et en glucose des feuilles traitées sont de 1,37 %, 29,00 %, 1,90 % tandis que celles des feuilles témoins sont de 0,82 %, 26,00 %, 1,85 %, respectivement. L'Ométhoate peut être utilisé comme substitut, lorsque les thrips deviennent résistants au Rogor.

REVUE SIGNALETIQUE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / Bulgarian.

(D) Allemand / German.

(F) Français / French.

(K) Coréen / Korean.

(Pt) Portugais / Portuguese.

(Ro) Roumain / Rumanian.

(C) Chinois / Chinese.

(E) Anglais / English.

(J) Japonais / Japanese.

(Pl) Polonais / Polish.

(R) Russe / Russian

(S) Espagnol / Spanish.

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

The corresponding small letters are used to indicate the language of the summary.

Sériciculture générale

General sericulture

La soie en Touraine.

Silk in Touraine.

Ann.

Association amis de la biblio. de prêt d'Indre et Loire 165, rue des Douets, 37100 Tours.

1988 Association des amis de la B.C.P. d'Indre et Loire, 37 p. (F)

Historic silk flags from Harrisburg.

Histoire des drapeaux en soie d'Harrisburg.

BALLARD M., KOESTLER R.J., BLAIR C., SANTAMARIA C., INDICTOR N.

1988 A.C.S. Symp. Ser., 134-142. (E)

Mulberry under coconut : sericulture increase coconut profitability.

Mûraies sous les cocotiers: la sériciculture augmente la rentabilité des cocotiers.

DIAS N.S.

1989 Coconut Bulletin (Sri Lanka), Vol. 6(1), 1-4. (E)

Economic efficiency of scarce rearing of *Bombyx mori*.

Efficacité économique d'un élevage limité de *Bombyx mori*.

HE G., WU P., HUANG Y.

South China Agricultural Univ., Department of Sericulture, Guangzhou, China.

1987 Guangdong Agricultural Science, Vol. 3, 23-25. (C)

Densonucleosis occurred in Kumamoto prefecture.

Apparition de la densonucléose dans la région de Kumamoto.

ICHIDA M.

1990 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 59(1), 78-80. (J)

Science and civilization in China.

Science et civilisation en Chine.

NEEDHAM J.

1988 Cambridge Univ. Press. Vol. 5 part 9 textile technology, 220 p. (E)

Livestock husbandry methods of obtaining high yields of mulberry silkworm cocoons.

Méthodes de gestion des animaux pour obtenir des rendements élevés de cocons de vers à soie du mûrier.

NUMANOV M.I., ABDUKADYROV S.A., MURATOV K.M.

1987 *Soviet Agricultural Sciences*, Vol. 2, 54-55. (E, R)

A study on reverse rotary cultivator with T-type of cutter for covering green manure under ground.

Etude sur un motoculteur rotatif inverse avec des lames en T pour répandre de l'engrais sous terre.

SUN C-Y., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 50-51. (C)

Theoretical study of the interdependency on the markets and price fluctuations in the spun silk industry.

Etude théorique de l'interdépendance entre les marchés et la fluctuation des prix dans l'industrie de la filature.

UYAMA M., HAMAZAKI M.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 493-498. (J)

The structural characteristics and effects of the dyke-pond system in China.

Caractéristiques et effets de la structure du système d'endigage en Chine.

ZHONG G. F.

Guangzhou Institut of Geography, Guangzhou, Guangdong, China.

1990 *Abstracts on Tropical Agriculture*, Vol. 15(7), 41. (E)

Mûrier

Mulberry

Studies on harvesting system in dense planting mulberry field at mountain arable ground.

Etudes sur les systèmes de récolte dans les mûraies denses en montagne.

ARAI M., SEKI K.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Vol. 4, 1-6. (J)

Effect of different plantation spacings on leaf yield of mulberry varieties.

Effet d'un espacement varié sur le rendement en feuilles des variétés de mûriers.

BARI M.A., ALI R., QUIYYUM M.A.

Bangladesh Association for the Advancement of Science, Dhaka, Bangladesh.

1987 B.A.A.S., Annual Bangladesh Science Conference, p. 9. (E)

Effect of seasons on mulberry leaf yield under bush, lowcut and tree cultivation (in Bangladesh).

Effet des saisons sur le rendement en feuilles des mûriers cultivés en buisson, en taille basse et en arbre au Bangladesh.

BARI M.A., QUIYYUM M.A.

Bangladesh Association for the Advancement of Science, Dhaka, Bangladesh.

1987 B.A.A.S., Annual Bangladesh Science Conference, p. 9. (E)

Search of nitrogen fixing bacteria as biofertilizer for mulberry.

Recherche d'une bactérie fixant l'azote comme biofertilisant pour les mûriers.

DAS P.K., CHOUDHURY P.C., GHOSH A., KATIYAR R.S., SENGUPTA K. *et al.*

Agronomy Laboratory, CSR & TI, Mysore, India.

1989 Newsletter, Vol. 4(3), 5-6. (E)

Effect of colchicine on sex expression and leaf shape in mulberry.

Effet de la colchicine sur l'expression sexuelle et la forme de la feuille chez les mûriers.

DWIVEDI N.K., SURYANARAYANA N., SUSHEELAMMA B.N., SIKDAR A.K., *et al.*

Mulberry Breeding and Genetics Section, C.S.R. & T.I., Mysore, Karnataka, India.

1988 Current Science, Vol. 57 (15), 851-852. (E)

Induction of hybrid mulberry seedlings to tetraploid plants by using colchicine.

Induction de tétraploïdie chez des jeunes plants de mûriers hybrides en utilisant la colchicine.

GUO Z., WANG S., SU D.,

1989 Canye Kexue, Vol. 15(1), 13-17. (C)

Biosynthetic studies on optically active Diels-Alder type adducts.

Etudes biosynthétiques sur les adduits de type Diels-Alder optiquement actifs.

HANO Y., NAKAJIMA S., NOMURA T., UEDA S.

1989 *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshihu*, 31st, 276-283. (J)

Constituents of the Moraceae plants. 3) Two new Diels-Alder type adducts, mulberrofuran T and Kuwanol E, from callus tissues of *Morus alba*.

Constituants des Moracées. 3) Deux nouveaux adduits de type Diels-Alder, le mulberrofuran T et le Kuwanol E, provenant des cals des tissus de *Morus alba*.

HANO Y., NOMURA T., UEDA S.

1989 *Heterocycles*, Vol. 29, 2035-2041. (E)

Constituents of the cultivated mulberry tree. Part XLI: two new phenolic compounds kuwanol C and D from the rootbark of a mulberry tree redifferentiated from the callus tissues.

Composants des mûriers cultivés. Partie XLI: deux nouveaux composés phénoliques kuwanol C et D de l'écorce d'un mûrier différencié à partir des cals.

HANO Y., SUZUKI S., NOMURA T., UEDA S.

1989 *Heterocycles*, Vol. 29(4), 807-813. (E)

Influence of harvesting with mulberry (*Morus alba*) shoot cutter on "Megare" disease (*Fusarium lateritium*, *F. roseum*, *Hypomices solani*).

Influence de la récolte de scions de mûriers sur la maladie de Megare (*Fusarium lateritium*, *F. roseum*, *Hypomices solani*).

HIRASAWA H., KIMURA S., SUZUKI M.

Yamagata-ken. Sericultural Experiment Station, Murayama, Japan.

1987 *Tohoku Agricultural Research*, Vol. 40, 373-374. (J)

Varietal differences in food value of mulberry leaves with special reference to production efficiency of cocoon shell.

Différences variétales de la valeur nutritive des feuilles de mûriers mesurées par le rendement en coque soyeuse.

HIROAKI M., KOITSU K.

National Inst. of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 34-42. (J, e)

Effects of fertilizer placement and level on the yield and nutrient content of mulberry (*Morus alba* L.).

Effets de l'utilisation et du taux de fertilisants sur le rendement et le contenu nutritionnel des mûriers (*Morus alba* L.).

HONGSOMBUD J.

Central Luzon State Univ., Munoz, Nueva Ecija, Philippines.

1986 *Thesis (M.S. in Agronomy)*, Nunoz, Nueva Ecija, 94 p. (E)

The plants for maturation feeding of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* Pascoe.

Les plantes pour le nourrissage du scarabée longicorne à taches jaunes mature *Psacotha hilaris* Pascoe.

IBA M.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 505-510. (J)

Induction of ovipositional behavior on the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* Pascoe, by leaves of mulberry and several other Moraceous plants.

Induction du comportement d'oviposition du scarabée longicorne à taches jaunes *Psacotha hilaris* Pascoe avec des feuilles de mûriers et divers moracées.

IBA M.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 499-504. (J)

Differences in the incipient damage by the yellowspotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* Pascoe (Coleoptera : Cerambycidae), observed among the mulberry strains.

Variations dans la manifestation des dommages causés par le scarabée longicorne à taches jaunes *Psacotha hilaris* Pascoe (Coleoptera : Cerambycidae), observées sur des souches de mûriers.

IBA M., SHIOKAWA H.

1990 Acta Sericologica et Entomologica, Vol. 2, 45-51. (J)

Callus induction in culture of mulberry pollen.

Induction de cals dans la culture du pollen du mûrier.

KATAGIRI K.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 527-529. (J)

Comparison of harvesting efficiency among a few cultivated varieties in dense planting mulberry (*Morus alba*) field.

Comparaison de l'efficacité de la récolte chez quelques variétés cultivées en mûraies denses (*Morus alba*).

KOYAMA A., FUJITA S.

Fukushima-ken. Sericultural Experiment Station, Yanagawa, Japan.

1987 Tohoku Agricultural Research, Vol. 40, 353-354. (J)

Effect of low temperature treatment on symptom development of mulberry dwarf in the axillary bud culture.

Effet du traitement à basse température des cultures de bourgeons axillaires sur le développement du symptôme du nanisme chez le mûrier.

KUDO T., ITO T.

Yamagata-ken. Sericultural Experiment Station, Murayama, Japan.

1987 Tohoku Agricultural Research, Vol. 40, 361-362. (J)

Relations between combinative application of three-primary-elements of fertilizer and the quality of mulberry leaves.

Rapport entre l'application combinée de trois éléments primaires d'un fertilisant et la qualité des feuilles de mûrier.

LI G., YU S., CHEN X.

Guangdong Provincial Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou Inst. of Seric., China.

1988 Guangdong Agricultural Sciences, Vol.24(3), 27-29. (C)

Epidemiological studies on mulberry dieback caused by *Diaporthe nomurai* Hara.

Etudes épidémiologiques sur le dépérissement des mûriers causé par *Diaporthe nomurai* Hara.

MATSUNO M.

1988 The Bull. of the Fukushima Seric. Exp. Station, Vol. 23, 1-107. (J, e).

Isomerization of tetrahydroartocarpin to thermodynamically more stable tetrahydromulberrin (tetrahydrokuwanon C).

Isomérisation de la tétrahydroartocarpine en une tétrahydromûrine plus stable sur le plan de la thermodynamique (tétrahydrokuwanon C).

MEREYALA H.B., DESHPANDE V.H., SAMUEL A.G.
1988 *Indian J. Chem. Sect. B.*, Vol. 27B(10), 945-946. (E)

Resistance of different mulberry varieties to *Diplosis* sp.

Résistance de certaines variétés de mûriers au *Diplosis* sp.

MIAO P.C.
1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 107-108. (C)

Effect of organic materials application to the soil on root-infecting fungi, 5: Antagonism against four soil-born pathogens of the microorganisms isolated from silkworm-feces and the soil applied silkworm-feces.

Effet de l'application de substances organiques dans le sol sur les champignons infectant les racines. 5: Effet contre quatre pathogènes de microorganismes du sol isolés à partir d'excréments du ver à soie et du sol traité avec excréments.

MITSUEDA T., HANEDA H., MATSUZAKI I.
Tohoku National Agricultural Experiment Station, Morioka, Japan.
1987 *Annual Report, Society of Plant Protection of North Japan*, Vol. 38, 75-77. (J)

Species composition and its seasonal changes of the thysanoptera fauna in the mulberry fields.

Composition en espèces et variations saisonnières de thysanoptères dans des mûraies.

MIYAZAKI M.
National Institute of Sericultural and Entomol. Sci., Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 23-32. (J,e)

Residual mercury accumulation in exposed mulberry plants.

Accumulation de mercure résiduelle dans les plants de mûriers exposés.

MOHAPATRA A., DAS P.K., PANIGRAHI A.K.
1989 *Curr. Sci.*, Vol. 58(14), 806-807. (E)

Tissue culture of the mulberry, *Morus* spp., and the paper mulberry, *Broussonetia kazinoki* Sieb, and shoot graft experiment between them.

Culture tissulaire du mûrier *Morus* spp., du mûrier à papier *Broussonetia kazinoki* Sieb et expérience de greffe en écusson entre les deux.

OGURE M.
1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 93-108. (J)

Varietal and regional differences of dwarf disease resistance in mulberry.

Différences variétale et régionale de la résistance au nanisme chez le mûrier.

OGURE M., HARASHIMA N., NAGANUMA K.
Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki, Japan.
1987 *Technical Bulletin of Sericultural Experiment Station*, Vol. 130, 7-43. (J)

Studies on efficient weed control using herbicides in mulberry field introducing a shoot harvester during the planting year.

Efficacité de la lutte contre les mauvaises herbes à l'aide de désherbants dans les champs de mûriers en introduisant une moissonneuse de pousses pendant l'année de plantation.

OKA K., ARAI M.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 Gunma Journal of Agricultural Research. Series B. Vol. 4, 7-12. (J)

Studies on the cultivation of Shimaguwa, *Morus acidosa* Griff., in Okinawa (Ryukyu Arc.) (Japan), 7: A case of harvesting of mulberry for multiple rearing of silkworm in Ishigaki island.

Etudes sur la culture du Shimaguwa, *Morus acidosa* Griff., à Okinawa (Ryukyu Arc., au Japon), 7. : culture de mûriers pour effectuer des élevages multiples de vers à soie dans l'île d'Ishigaki.

ONO M.

Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

1987 Technical Bulletin of Sericultural Experiment Station, Vol. 130, 1-6. (J)

Studies on formation of adventitious bud and growth of plantlet in the Hypocotyl callus of mulberry.

Etudes sur la formation de bourgeons adventifs et sur la croissance des jeunes plants dans les cals hypocotyles de mûriers.

OSHIGANE K.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 368, Japan.

1989 J. of Fac. of Textile Science & Tech., Vol. 11(107), 41-53. (J, e)

On the redifferentiation of shoot callus to different culture in mulberry.

Sur la redifférenciation des cals des pousses de différentes cultures chez le mûrier.

OSHIGANE K.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1989 J. of the Faculty of Textile Science & Technology, Vol. 11, 13-39. (J, e)

On the different crown architecture in *Morus alba* L. and its causes. / Ueber einen abweichenden kronenaufbau bei *Morus alba* L. und dessen ursachen.

Sur différentes architectures en couronne chez *Morus alba* L. et ses causes.

PACLT J.

1988 Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft, Vol. 78, 47-47. (D)

Effects of pruning time on growth and yield off bush, lowcut and tree mulberry.

Effets du moment de la taille sur la croissance et le rendement des mûriers en buisson, en taille basse et en arbre.

QAIYYUM M.A.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 Bull. Sericult. Res., Vol. 1, 70-77. (E)

Bark eating caterpillar, *Indarbela quadrinotata* (Walker), attacks mulberry too.

La chenille mangeuse d'écorce *Indarbela quadrinotata* (Walker) s'attaque également aux mûriers.

REMADEVI O. K.

Silkworm Physiology Laboratory, C.S.R. & T.I., Mysore, India.

1989 Newsletter, Vol. 4(3), 4. (E)

Testing and adaptation study on the exotic mulberry varieties for foliage yield.

Tests et étude d'adaptation des variétés de mûriers exotiques pour le rendement foliaire.

SULTANI M.I., ZAFARUDDIN, AKBAR G.

National Agricultural Research Centre, Islamabad, Pakistan.

1989 *Pakistan Journal of Forestry*, Vol. 39(1), 11-14. (E)

The breeding of two new early sprouting mulberry varieties "Yu-151" and "Yu-237".

Culture de deux nouvelles variétés précoces de mûriers "Yu-151" et "Yu-237".

SUN X-X. *et al.*

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 1-4. (C, e)

Polyploidy and gene dosage effects on peroxidase activity in mulberry.

Polyploïdie et effets du dosage des gènes sur l'activité peroxydase chez le mûrier.

SUSHEELAMMA B.N., VENKATESWARLU M.

1989 *Curr. Sci.*, Vol. 58(10), 580-581. (E)

Studies on the growth control of mulberry trees in the field introducing shoot reaper in mulberry field for summer-autumn rearing.

Etudes sur le contrôle de la croissance des mûriers en extérieur au moyen d'une machine à couper les pousses dans les champs de mûriers pour l'élevage été-automne.

TSUNODA H.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research. Series B.*, Vol. 4, 43-44. (J)

Studies on freezing and frost injury of mulberry trees by late spring frost in early stage of growing mulberry buds (Japan).

Etudes sur les lésions causées par le froid et le gel sur les mûriers pendant les gelées tardives de printemps sur les premiers bourgeons. (Japon).

TSUNODA H., IWASAKI K., KOJIMA S., ARAI M., HIRATA A. *et al.*

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research, Series B. Vol. 4*, 13-20. (J)

Proline metabolism during water stress in mulberry.

Métabolisme de la proline chez les mûriers en période de sécheresse.

VEERANJANEYULU K., KUMARI B.D

1989 *J. Exp. Bot.*, Vol. 40, 581-583. (E)

Variations of abscisic-like-substance contents in mulberry winter buds during its dormancy-period.

Variations des contenus en substances similaires à l'acide abscisique dans les bourgeons d'hiver du mûrier pendant sa période de dormance.

YAHIRO M., WANG G.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 81-82. (J)

Relationship between the growth of axillary bud and the IAA content in mulberry leaves and branches after pruning.

Relation entre la croissance du bourgeon axillaire et le taux en IAA contenu dans les feuilles de mûriers et les branches après la taille.

YANAGISAWA Y.

1990 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 59(1), 83-84. (J)

Morusin, isolated from root bark of *Morus alba*, inhibits tumor promotion by teleocidin.

La morusine, isolée de l'écorce de *Morus alba*, inhibe la promotion de tumeurs obtenue par la téléocidine.

YOSHIZAWA S., SUGANUMA M., FUJIKI H., FUKAI T., NOMURA T., SUGIMURA T.

1989 Phytother. Res., Vol. 3(5), 193-195. (E)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie

B. mori : rearing, feeding, pathology

Mosaic infection with a densovirus in the midgut epithelium of the silkworm, *Bombyx mori*.

Infection mosaïque provoquée par un virus de la denso-nucléose dans l'épithélium intestinal du ver à soie *Bombyx mori*.

ABE H., KOBAYASHI M., WATANABE H.

1990 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 55, 112. (E)

Desinfectant effects of the silkworm rearing house with ultra mist of formalin.

Effets désinfectants de l'ultra buée de formaldéhyde dans les pièces d'élevage de vers à soie.

ABE T.

Miyagi-ken. Sericultural Experiment Station, Watari, Japan.

1987 *Tohoku Agricultural Research*, Vol. 40, 359-360. (J)

Ultrastructures of *Leptomonas* sp. LA-SES-AA 7601 strain pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*.

Ultrastructures de *Leptomonas* sp., souche LA-SES-AA 7601 pathogène pour le ver à soie *Bombyx mori*.

ABE Y., IWASHITA Y.

National Institute of Agro-environmental Science, Tsukuba 305, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58 (6), 443-447. (J, e)

Microbial ecology of *Bacillus thuringiensis*, 7: Fate of *Bacillus thuringiensis* in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, and the fall webworm, *Hyphantria cunea*.

Ecologie microbienne de *Bacillus thuringiensis*. 7 : Rôle de *Bacillus thuringiensis* chez les larves du ver à soie *Bombyx mori* et du ver tisseur *Hyphantria cunea*.

AKIBA Y.

Saitama-ken. Sericultural Experiment Station, Kumagaya, Japan.

1986 *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, Vol. 30(2), 99-105. (J)

A study on the control of uzi fly, *Tricholyga bombycis* (Beck) in silkworm *Bombyx mori*.

Etude sur la lutte contre la mouche uzi *Tricholyga bombycis* (Beck) chez le ver à soie *Bombyx mori*.

BARMAN A.C., PASHA K., NAHAR A.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 65-69. (E)

Nutritional value of mulberry leaves with plant growth regulator or nitrogen fertilizer to larvae of mulberry silkworm (*Bombyx mori*).

Valeur nutritionnelle des feuilles de mûrier traitées avec un régulateur de croissance ou un fertilisant à base d'azote pour les larves du ver à soie du mûrier *Bombyx mori*.

FARAG A.I., ATTIA M.B.

1988 *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wroclaw, Vol.33(8), 129-134. (E)*

Possibility for enhancement of vitality and productivity by crossbreeding mono-with bivoltine silkworm races (*Bombyx mori* L.).

Possibilité d'accentuer la vitalité et la productivité en croisant des vers à soie monovolins et bivoltins (*Bombyx mori* L.).

GREKOV D., PETKOV E.

Experimental Station of Sericulture, Vratsa, Bulgaria.

1988 *Animal Science, Vol. 25(3), 85-90. (B, e)*

Effects of dietary levels of protein and pyridoxine on growth of 5th instar larvae of the silkworm *Bombyx mori*.

Effets des taux alimentaires de protéine et de pyridoxine sur la croissance des larves du 5ème âge du ver à soie *Bombyx mori*.

HAMANO K., TSUCHIDA K.

1989 *J.S.S.J., Vol. 58, 380-386. (J)*

Performance of some silkworm races feeding on different mulberry cultivars of Bangladesh.

Performance de certaines races de vers à soie nourries sur différents cultivars de mûriers au Bangladesh.

HAQUE T., HAQUE K.T., RAHMAN S. M.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res., Vol. 1, 35-40. (E)*

Development of high yielding silkworm races : I. Breeding of BSRI-85 Series.

Développement de races de vers à soie à rendement élevé : I. Elevage de BSRI-85.

HAQUE T., RAHMAN S.M.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res., Vol. 1, 51-60. (E)*

Frozen storage of *Nosema bombycis* at ultra-low temperature.

Stockage au congélateur de *Nosema bombycis* à très basse température.

HAYASAKA S., AYUZAWA C.

National Inst. of Sericultural and Entomol. Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *Acta Sericologica et Entomologica, Vol. 2, 53-61. (J,e)*

The breeding of the silkworm varieties "57A - 57B", "24 - 26" and their hybrids for both spring and autumn rearing.

Production des variétés de vers à soie "57A - 57B" "24 - 26" et des hybrides correspondants pour les élevages de printemps et d'automne.

HE S-M, *et al.*

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(1), 15-20. (C, e)*

Electron microscopic observation of the plasmid DNA bearing insecticidal crystal protein gene in *Bacillus thuringiensis*.

Observation au microscope électronique de l'ADN du plasmide porteur du gène de la protéine cristalline insecticide chez *Bacillus thuringiensis*.

IIZUKA T., ARAKIDA M., KIKUTA H., ISIDA K., UYEDA I., SHIKATA E.

Laboratory of Sericology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58 (6), 448-456. (E)

Structure of halotoxin produced by phytopathogenic bacterium, *Pseudomonas syringae* var. *mori*.

Structure de l'halotoxine produite par une bactérie phytopathogénique, *Pseudomonas syringae* var. *mori*.

KASIMOTO T., YOKONIZO K., YAHIRO K.

1989 *Chem. Lett.*, Vol. 4, 679-680. (E)

Recent research on the cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm, *Bombyx mori*.

Recherche récente sur le virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie *Bombyx mori*.

KAWASE S.

Faculty of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-01, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 1-13. (J)

Effects of high temperature to dry the moths on the antigenicity of microsporidian spores in the pebrine inspection of silkworm mother moths.

Effets du séchage des papillons à haute température sur l'antigénicité des spores de microsporidiens lors de la détection de la pébrine chez les papillons femelles du ver à soie.

KOBAYASHI H.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research. Series B.*, Vol. 4, 47-48. (J)

Discrimination of microsporidian spores with fluorescent antibody techniques in the insects.

Discrimination des spores de microsporidiens chez les insectes par anticorps fluorescents.

KOBAYASHI H., YAMAZAKI D.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research. Series B.*, Vol. 4, 25-28. (J)

Selective diminishment of virus-specific translatable mRNA in the denonucleosis virus infected midgut of the silkworm, *Bombyx mori*, reared at a supraoptimal temperature.

Diminution sélective de l'ARNm traductible spécifique du virus dans l'intestin du ver à soie infecté par le virus de la denonucléose, élevé à une température supraoptimale.

KOBAYASHI M.

1989 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 54, 379. (E)

Effect of sucrose addition on larva of domestic silkworm.

Effet de l'addition de saccharose sur les larves de vers à soie domestiques.

LU

1989 *Canye Kexue*, Vol. 15(1), 23-30. (C)

Improvement of composition in artificial diets and rearing techniques for the 3rd instar of silkworm, 1 : Improvement of composition in diets.

Amélioration de la composition des aliments artificiels et des techniques d'élevage des vers à soie au 3ème âge, 1 : Amélioration de la composition des aliments.

MACHIDA J.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research. Series B. Vol. 4, 29-36. (J)*

An effective rearing of silkworm larvae in a conventional room using the sterilized artificial diet.

Elevage des larves de vers à soie dans des pièces traditionnelles et nourries avec un aliment artificiel stérilisé.

MATSUBARA F., SUMIDA M., MORI H., OHNISHI M.

Faculty of Textile Science, Kyoto Inst. of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 463-467. (J, e)*

Use of blood meal as a source of dietary protein 1) Blood meal used as dietary supplement in artificial diet for the silkworm *Bombyx mori*.

Utilisation de sang comme source de protéine alimentaire 1) Sang utilisé comme apport nutritionnel dans une alimentation artificielle pour le ver à soie *Bombyx mori*.

MATSURA Y.

1989 *Chikusan Shikenjo Kenkyu Hokoku, Vol. 49, 9-12. (J)*

Use of blood meal as a source of dietary protein 2) Blood meal and chicken commercial formula feed used as main components of low cost artificial diet for the silkworm *Bombyx mori*.

Utilisation de sang comme source de protéine alimentaire 2) Mélange commercial de sang et de poulet utilisé comme composant principal d'une alimentation artificielle à bas prix pour *Bombyx mori*.

MATSURA Y.

1989 *Chikusan Shikenjo Kenkyu Hokoku, Vol. 49, 13-17. (J)*

Comparison of synchronization of growth in larval populations between rearing on two kinds of artificial diets and mulberry leaves.

Comparaison entre l'élevage sur deux types d'aliments artificiels et sur feuilles de mûriers de la synchronisation de la croissance des populations larvaires

MORI H., OHNISHI M., SUMIDA M., HAMAZAKI M., MATSUBARA F.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 524-526. (J)*

***In vitro* control of white muscardine disease of silkworm, *Bombyx mori* L.**

Lutte *in vitro* contre la muscardine blanche du ver à soie *Bombyx mori* L.

PASHA M.K., BARMAN A.C., NESSA J.M.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res., Vol. 1, 78-79. (E)*

Effect of continuous close breeding in silkworm (*Bombyx mori* L.).

Effet des élevages rapprochés continus chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

PETKOV N.

Experimental station of Sericulture, Vratsa 3000, Bulgaria.

1979 *Genetics & Plant Breeding, Vol. 12(3), 207-216. (B,e)*

Separating accuracy of developed weigh separator of silkworm cocoons for separation of male and female.

Précision d'un trieur de poids permettant de séparer les cocons mâles et femelles.

SEO Y., NAGATA M., MORISHIMA H., HOSOKAWA A., MIYAZAWA T.

Tokyo University, Faculty of Agriculture, Japan.

1986 Journal of the Japanese Society of Agric. Machinery, Vol. 48(2), 257-260. (J)

Mulberry roots and seeds may be effective in the treatment of AIDS.

Les racines et les graines de mûriers peuvent avoir une efficacité dans le traitement du Sida.

SERGIO W.

1989 Medical Hypotheses, Vol. 29, 75.

Studies in the nutrient contents of mulberry leaves and their effect on silk production by *Bombyx mori* Linn. (Lepidoptera : Bombycidae)

Etudes sur les contenus nutritifs des feuilles de mûriers et leur effet sur la production de soie de *Bombyx mori* Linn. (Lepidoptera : Bombycidae).

SHAHJAHAN M., ISLAM B. N.

1987 B.A.A.S. Proceedings of the 12th Annual Conference, p. 18. (E)

Relationship between riching harvest and low-temperature rearing during the grown silkworm stage.

Rapport entre la richesse de la récolte et l'élevage à basses températures au cours de la croissance du ver à soie.

SHISHIDO T., HASHIGUCHI T.

Tohoku National Agricultural Experiment Station, Morioka, Japan.

1987 Tohoku Agricultural Research, Vol. 40, 369-370. (J)

Heat tolerance in 5th instar larvae from the viewpoints of silkworm healthiness and some cocoon characters, with special reference to racial differences.

Tolérance à la chaleur des larves du 5ème âge du point de vue de la santé des vers à soie et de certains caractères des cocons, chez différentes races.

SUZUKI K., UEDA S.

Sericultural Experiment station, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

1987 Technical Bulletin of Sericultural Experiment Station, Vol. 130, 45-54. (J)

Silkworm feeding in its early larval phase with vertically arranged mulberry leaves.

Elevage de vers à soie pendant la première phase larvaire avec des feuilles de mûriers placées verticalement.

TANG C., HAN L., WANG J.

Diversified Economy Management Bureau of Haiyan County, Jiangsu, China.

1988 Shanghai Agricultural Sciences and Technology, Vol. 6, 18-32. (C)

Purification, characterization and structure of CM2Ph2, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*.

Purification, caractérisation et structure de CM2Ph2, un peptide antibactérien de *Bombyx mori*.

TU Y.Z., QU X.M., XU T.S.

1989 Science in China, Series B, Vol. 32, 1972. (C)

Purification and amino acid composition of anti-*Enterococcus* protein(ASP) in the digestive juice of the silkworm larvae, *Bombyx mori*.

Purification et composition en acides aminés de la protéine anti-*Enterococcus* (ASP) du suc digestif des larves de vers à soie *Bombyx mori*.

UTSUMI S., OKADA T.

Faculty of Textile Science, Kyoto Inst. of Tech., Sakyo-Ku, Kyoto 606, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 468-473. (J, e)

Breeding of the silkworm varieties "Suhua", "Chunhui" and their hybrids for spring rearing.

Production des variétés de vers à soie "Suhua" "Chunhui" et de leurs hybrides pour l'élevage de printemps.

XU M-K. *et al.*

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 5-13. (C, e)

Extraction of pectin in feces of silkworm.

Extraction de pectine à partir des matières fécales du ver à soie.

XU Y.

1989 *Huaxue Shijie*, Vol. 30(5), 230-232. (C)

Properties of fungal protease inhibitors from the integument and hemolymph of the silkworm and effect of an inhibitor on the fungal growth.

Propriétés des inhibiteurs de la protéase fongique du tégument et de l'hémolymph du ver à soie et effet d'un inhibiteur sur la croissance fongique.

YOSHIDA S., YAMASHITA M., YONEHARA S., EGUCHI M.

1990 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 95, 559. (E)

The 25-kilodalton hemolytic protein affinity-purified from parasporal inclusions of *Bacillus thuringiensis* strain PG-14 (serotype 8a : 8b).

La protéine hémolytique de 25 kilodaltons purifiée par affinité à partir d'inclusions parasporales de la souche PG-14 de *Bacillus thuringiensis* (sérotipe 8a : 8b).

YU Y.M., OHBA M., AIZAWA K.

1989 *Current microbiology*, Vol. 18(4), 243-246. (E)

Toxicity of "Pushiling" to the silkworm.

Toxicité du "Pushiling" sur le ver à soie.

YU Z-Y., *et al.*

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 57. (C)

Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Biological activity of azadirachtin, three derivatives, and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (Lepidoptera : Noctuidae) larvae.

Activité biologique de l'azadiractine et trois dérivés, et des produits de leur dégradation par les rayons ultraviolet sur les larves du ver du tabac (Lepidoptera : Noctuidae).

BARNBY M.A., YAMASAKI R.B., KLOCKE J.A.

1989 *Journal of economic entomology*, Vol. 82(1), 58-63. (E)

Excitation of proleg motor activity by formamidine pesticides as a possible sublethal mechanism of action in *Antheraea* larvae.

Stimulation de l'activité motrice des fausses pattes à l'aide de pesticides à base de formamide comme moyen d'action subléthal possible chez les larves d'*Antheraea*.

COX S.C.

University of Bristol, Bristol, England.

1989 *Pesticide biochemistry and physiology*, Vol. 33(1), 88-100. (E)

Dose-dependent influence of *Campoletis sonorensis* polyDN virus on the development and ecdysteroid titers of last-instar *Heliothis virescens* larvae.

Influence de la dose du virus à polyADN *Campoletis sonorensis* sur le développement et la concentration d'ecdystéroïde chez les larves d'*Heliothis virescens* au dernier âge.

DOVER B.A., DAVIES D.H., VINSON S.B.

1988 *Archives of insect biochemistry and physiology*, Vol. 8(2), 113-126. (E)

Spider silk, symbionts and seaweed.

Soie d'araignée, symbiotes et varech.

KNIGHT P.

1989 *Bio. Technology*, Vol. 7, 993. (E)

Systematic positions of *Acentria ephemerella* (Denis and Schiffermuller), *Nymphylinae* and *Schoenobilineae* based on morphology of immature stages (Pyrilidae).

Position systématique d'*Acentria ephemerella* (Denis et Schiffermuller), *Nymphylinae* et *Schoenobilineae* basée sur la morphologie des stades immatures (Pyrilidae).

PASSOA S.

1988 *Journal of the Lepidopterists' Society*, Vol. 42(4), 247-262. (E)

A melanic male of *Antheraea polyphemus polyphemus* (Saturniidae).

Un mâle mélanisé chez *Antheraea polyphemus polyphemus* (Saturniidae).

THOMAS A. W., FAIRCHILD W. L.

1988 *Journal of the Lepidopterists' Society*, Vol. 42(4), 292-294. (E)

Aspects of overwintering in the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera, Noctuidae), 1: Supercooling points and contents of glycogen and trehalose in pupae.

Aspects de l'hivernage chez le ver du chou *Mamestra brassicae* (Lepidoptera Noctuidae), 1 : Points de sur-refroidissement et contenus en glycogène et tréhalose chez les chrysalides.

TSUTSUI H., HIRAI Y., HONMA K., TANNO K., SHIMADA K. *et al.*

Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Japan.

1988 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 23(1), 52-57. (E)

Studies of β glucosidase and polyphenol oxidase of chinese oak silk moth.

Etudes sur la bêta-glucosidase et la polyphénol-oxydase du papillon séricigène du chêne chinois.

ZHOU Z.

1989 *Shipin kexue*, Vol. 114, 4-9. (C)

Effects of the treatment with magnetic field plus gamma ray on the hatching rate of tussah egg.

Effets du traitement avec un champ magnétique et des rayons gamma sur le pourcentage d'éclosion des oeufs tussah.

ZHOU Z., XU S., ZHAO R.

Shenyang Agricultural University. China.

1987 *Journal of Shenyang Agricultural University*, Vol. 18(4), 67-72. (C)

Vers à soie : génétique

Silkworms : genetics

Somatic effects of P element activity in *Drosophila melanogaster* : pupal lethality.
Effets somatiques de l'activité de l'élément P chez *Drosophila melanogaster* : mortalité nymphale.
ENGELS W.R., BENZ W.K., PRESTON C.R., GRAHAM P.L. *et al.*
1987 *Genetics*, Vol. 117(4), 745-757. (E)

Effect of different host plant on rearing of Eri-silkworm, *Philosamia ricini* Hutt.
Effet de différentes plantes hôtes sur l'élevage du ver à soie Eri, *Philosamia ricini* Hutt.
HUQ S. B.
Bangladesh Association for the Advancement of Science, Dhaka, Bangladesh.
1987 *B.A.A.S., Bangladesh Science Annual Conference*, p. 18. (E)

Recombinant baculoviruses as vectors for identifying proteins encoded by intron containing members of complex multigenes families.
Baculovirus recombinants utilisés comme vecteurs pour identifier des protéines codées par les membres des familles multigéniques contenant un intron.
IATROU K., MEIDINGER R. G., GOLDSMITH M. R.
1989 *P.N.A.S.*, Vol. 86, 9129-9133. (E)

Towards the development of a vector for transducing homologous and foreign genes into silkworm tissue culture cells and animals.
Vers le développement d'un vecteur permettant la transduction de gènes homologues et de gènes étrangers dans les cellules en culture de tissus de papillons et dans les animaux.
IATROU K., MEIDINGER R. G., SCHMIEL D.H., TRAN M.H., MOLNAR. E *et al.*
1988 *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wroclaw*, Vol. 33, 1055-1073. (E)

Breeding of "Xin Nong Guang 3", a hybrid of mulberry feeding silkworm.
Elevage de "Xin Nong Guang 3", un hybride du ver à soie élevé sur mûrier.
LI B., CHEN H., WU Y.
Guangdong Provincial Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou Inst. of Seric., China.
1987 *Guangdong Agricultural Sciences*, Vol. 2, 27-29. (C)

Studies on fluorine-resistant heredity in *Bombyx mori*. II. An analysis of genetic constituent of resistance to fluorine.

Etudes sur l'hérédité de la résistance à la fluorine chez *Bombyx mori*. II. Une analyse sur les composants génétiques de la résistance à la fluorine.

LIN J-R. *et al.*

Department of Sericulture, South China Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 25-28. (C, e)

Genetical studies on the Chocolate Purple-A new mutant in *Bombyx mori* L.

Etudes génétiques sur "Chocolate Purple-A" un nouveau mutant chez *Bombyx mori* L.

LU C. *et al.*

Department of Sericulture, Southwest China Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 21-24. (C, e)

Defects, structure and breakage of translocated chromosome in the sex-limited yellow cocoon strain of the silkworm, *Bombyx mori*.

Défauts, structure et cassure du chromosome transloqué dans la souche ou le caractère "cocon jaune" est lié au sexe chez *Bombyx mori*.

NIINO T.

Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

1988 *J.A.R.Q.*, Vol. 22(1), 57-63. (E)

Intra-breed variability and possibilities of breeding lines on the basis of characters determining the productivity of silkworm (*Bombyx mori* L.).

Variabilité dans les souches et possibilités d'obtenir des lignées en tenant compte des caractères déterminant la productivité du ver à soie *Bombyx mori* L.

PETKOV N.

Sericulture Experiment Station, Vratsa, Bulgaria.

1981 *Animal Science*, Vol. 18(4), 79-82. (B, e)

Inheritance of cocoon silk and selection effectivity in some interlinear *Bombyx mori* L. hybrids.

Hérédité des caractères de la soie du cocon et efficacité de la sélection chez certains hybrides de *Bombyx mori*.

PETKOV N.

Sericulture Experimental Station, Vratsa, Bulgaria.

1978 *Genetics & Plant Breeding*, Vol. 11(1), 63-70. (B, e)

Breeding genetic studies in some silkworm (*Bombyx mori* L.) breeds reared at high temperature and air humidity. III. Heterosis performances of quantitative characters.

Etudes génétiques chez certains souches de vers à soie (*Bombyx mori* L.) soumises à des températures et une humidité élevées. III. Hétéroose des caractères quantitatifs.

PETKOV N., NGUEN V.L.

Experimental Station of Sericulture, Vratsa 3000, Bulgaria.

1988 *Genetics & Breeding*, Vol. 21(4), 336-342. (B, e)

Genetical analysis on numbers of antennal parts in the silkworm moth, *Bombyx mori*.

Analyse génétique du nombre de parties des antennes chez le papillon *Bombyx mori*.

TAKEI R., XIANG Z., NAKAGAKI M., NAGASHIMA E.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Nagano 386, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 457-462. (J, e)

The experimental biological studies on the mixed sperm crossing in *Bombyx mori*.

Etudes biologiques expérimentales sur les croisements à partir des spermés mélangés chez *Bombyx mori*.

XU W-H. *et al.*

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 29-32. (C, e)

Studies of hybrid crosses between mono and bi-voltinnic breeds of silkworm (*Bombyx mori* L.) and their viability and productivity in F1.

Etudes sur les croisements hybrides entre les souches mono et bivoltines du ver à soie *Bombyx mori* L. et leurs viabilité et productivité en F1.

ZAHARIEVA K., PETKOV N.

Experimental Station of Sericulture, Vratsa 3000, Bulgaria.

1988 *Genetics & Breeding*, Vol. 21(2), 141-150. (B, e)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Pheromones : 71 Identification and synthesis of female sex pheromone of eri silkworm, *Samia cynthia ricini*.

Phéromones : 71 identification et synthèse de la phéromone sexuelle femelle du ver à soie eri *Samia cynthia ricini*.

BESTMANN H., ATTYGALLE A.

1989 *Tetrahedron lett.*, Vol. 30(22), 2911-2914. (E)

Respective contributions of juvenile hormone and 20-hydroxyecdysone to the regulation of major haemolymph protein synthesis in *Bombyx mori* larvae.

Rôles respectifs de l'hormone juvénile et de la 20-hydroxyecdysone dans la régulation de la synthèse de la protéine majeure de l'hémolymph chez les larves de *Bombyx mori*.

BOSQUET G., FOURCHE J., GUILLET C.

1989 *J. Insect Physiol.*, Vol. 35, 1005. (E)

Studies on the protease activity in the digestive juice of different breeds/races of mulberry silkworm *Bombyx mori*.

Etudes sur l'activité protéase dans le suc digestif de différentes souches/races de vers à soie *Bombyx mori*.

CHATTERJEE G.K., RAO G.P., ASHWATH S.K., CHATTERJEE S.N.

Genetic Laboratory, CSR & TI, Mysore, India.

1989 *Newsletter*, Vol. 4(3), 6-7. (E)

Studies on the mutation strain of Bm SNPV. 2) Clone with plaque technique and analysis with endonuclease.

Etudes sur la mutation de la souche de Bm SNPV. 2) clonage par la technique des plaques et analyse par endonucléase.

CHEN C., YANG J., LI M., YANG G.

1989 *Bingduxue zazhi*, Vol. 3, 285-291. (C)

Sex pheromone precursors in the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera : Thaumetopoeae).

Précurseurs de la phéromone sexuelle chez la processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera : Thaumetopoeae).

FABRIAS G., ARSEQUELL G., CAMPS F.

1989 *Insect Biochemistry*, Vol. 19, 177-181. (E)

The effect of administration of juvenoid on trimolters induced from a tetramolter strain of *Bombyx mori*.

Effet de l'administration de juvénoïdes sur des trimuants induits à partir d'une souche tétramuante de *Bombyx mori*.

FUJIEDA T.

Gunma-ken. Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research. Series B., Vol. 4, 49-50. (J)*

Structure of the gene for the arylphorin-type storage protein SP 2 of *Bombyx mori*.

Structure du gène de la protéine SP2 de stockage de type arylphorin de *Bombyx mori*.

FUJII T., SAKURAI H., IZUMI S., TOMINO S.

1989 *The journal of Biological chemistry, Vol. 264(19), 11020-11026. (E)*

Mechanism of enzymatic and chemical conversion of fucosterol epoxide.

Mécanisme de la conversion chimique et enzymatique de l'époxide de fucostérol.

FUJIMOTO Y., IKUINA Y., KANZAWA Y., NAGAKARI M., IKEKAWA N. *et al.*

1989 *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshihu, 31st, 412-419. (J)*

Ecdysteroids in medicine and sericulture.

Ecdistéroïdes en médecine et en sériculture.

GUO F.

1989 *Ecdysone, edited by Koolman J. Stuttgart, 442-446. (E)*

Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector.

Expression et effets de l'estérase d'hormone juvénile dans un baculovirus.

HAMMOCK B.D., BONNING B.C., POSSEE R.D., HANSLIK T.N., MAEDA S.

Dept. of Entomology, Univ. of California, Davis, California 95616, USA.

1990 *Nature, Vol. 344(6265), 458-460. (E)*

Regulation of dopa decarboxylase gene expression in the larval epidermis of the Tobacco hornworm by 20-hydroxyecdysone and juvenile hormone.

Régulation de l'expression du gène de la dopa-décarboxylase dans l'épiderme larvaire du ver du tabac par la 20-hydroxyecdysone et de l'hormone juvénile.

HIRUMA K., RIDDIFORD L. M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, Washington 98195, USA.

1990 *Developmental Biology, Vol. 138, 214-224. (E)*

Expression and hormonal control of a new larval cuticular multigene family at the onset of metamorphosis of the Tobacco hornworm.

Expression et contrôle hormonal d'une nouvelle famille multigénique cuticulaire larvaire au début de la métamorphose du ver du tabac.

HORODYSKI F. M., RIDDIFORD L. M.

Department of Zoology, NJ-15, University of Washington, Seattle, Washington 98195, USA.

1989 *Developmental Biology, Vol. 132, 292-303. (E)*

HPLC separation and characterization of chlorin derivatives with intact ring V from acid degradation products of silkworm excrement crude chlorophyll mixture.

Séparation par HPLC et caractérisation des dérivés chlorés ayant le cycle V intact à partir des produits de dégradation acides du mélange de chlorophylle brute des excréments du ver à soie.

HU L., XU D.

1989 Biomed. Chromatogra., Vol. 3(2), 72-74. (E)

Prothoracicotropic hormone and functionally related brain peptides of the silkworm, *Bombyx mori* : molecular structure and gene.

Hormone prothoracicotrope et peptides du cerveau reliés fonctionnellement chez le papillon *Bombyx mori* : structure moléculaire et gène.

ISHIZAKI H.

1989 Ecdysone, edited by Koolman J. Stuttgart, 204-210. (E)

Type I (R1) and type II (R2) ribosomal DNA insertions of *Drosophila melanogaster* are retrotransposable elements closely related to those of *Bombyx mori*.

Les insertions de type I (R1) et type II (R2) de l'ADN ribosomique chez *Drosophila melanogaster* sont des éléments rétrotransposables semblables à ceux de *Bombyx mori*.

JAKUBCZAK J.L., XIONG Y., EICKBUSH T.H.

1990 J. Mol. Biol., Vol. 212, 37-52. (E)

Stimulated synthesis of the female specific storage protein in male larvae of the silkworm *Bombyx mori* treated with juvenile hormone analog.

Stimulation de la synthèse de la protéine de stockage spécifique de la femelle chez les larves mâles du ver à soie *Bombyx mori* traitées avec un analogue d'hormone juvénile.

KAJIURA Z., YAMASHITA O.

1989 Arch. Insect. Biochem. & Physiol., Vol. 12, 99-109. (E)

Distribution and developmental changes in midgut sucrase activity of the silkworm, *Bombyx mori*.

Distribution et changements au cours du développement de l'activité de la sucrase dans l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori*.

KANEKATSU R., ICHIMURA H., HORI M.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 517-523. (J, e)

Application of glucose-analyzer for determination of midgut sucrase activity.

Application d'analyseur de glucose pour déterminer l'activité de la sucrase de l'intestin moyen.

KANEKATSU R., IGETA K.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(6), 532-533. (J)

Structure and organization of four clustered genes that encode bombyxin, an insulin related brain secretory peptide of the silkworm *B. mori*.

Structure et organisation de quatre gènes groupés codant pour la bombyxine, un peptide sécrété par le cerveau apparenté à l'insuline chez le papillon *B. mori*.

KAWAKAMI A., IWAMI M., NAGASAWA H. SUZUKI A., ISHIZAKI H.

1989 Proc. Nat. Acad. Sc. USA, Vol. 86, 6843. (E)

Molecular cloning of the *Bombyx mori* prothoracicotropic hormone.

Clonage moléculaire de l'hormone prothoracicotrope de *Bombyx mori*.

KAWAKAMI A., KATAOKA H., OKA T., MIZOGUCHI A., KIMURA M. *et al.*

1990 *Science*, Vol. 247, 1333. (E)

Identification of virus specific polypeptides and translatable mRNAs in the isolated pupal abdomens of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with nuclear polyhedrosis virus.

Identification des polypeptides spécifiques du virus et des ARNm traduisibles dans l'abdomen nymphal isolé du ver à soie, *Bombyx mori*, infecté par le virus de la polyédrose nucléaire.

KOBAYASHI M., KOTAKE M., SUGIMORI H., NAGAMINE T., KAJIURA Z.

1990 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 55, 52. (E)

Attraction of *Amphion floridensis* (Lepidoptera : Sphingidae) to bombykol, (E,Z)-10-12 hexadecadienal.

Attraction d'*Amphion floridensis* (Lepidoptera : Sphingidae) par le bombykol, (E,Z)-10-12 hexadécadienal.

LANDOLT P.J., TUMLINSON J.H., BRENNAN M.

1989 *Fla. Entomol.*, Vol. 72(2), 324-327. (E)

Analysis for chemical composition and amino acid content of the silkworm pupa.

Analyses de la composition chimique et du contenu en acides aminés de la chrysalide du ver à soie.

LI X., CHEN G., XIE D., LI Z.

Zhejiang Provincial Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, inst. of Seric., China.

1988 *Zhejiang Agricultural Sciences*, Vol. 1, 34-36. (C)

Studies on neurosecretory cells of oak silkworm I. On neurosecretory cells of the brain.

Etudes sur les cellules neurosécrétrices du ver à soie du chêne. I. Sur les cellules neurosécrétrices du cerveau.

LU M., ZHANG Y., XU Q.

Shenyang Agricultural University, China.

1987 *Journal of Shenyang Agricultural University*, Vol. 18(4), 1-7. (C)

Studies on the Anti-Streptococcus protein from the digestive juice of domesticated silkworm larvae.

Etudes sur la protéine anti-streptococcus du suc digestif de la larve du ver à soie domestiqué.

LU X-M., *et al.*

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 33-38. (C, e)

Effect of temperature on certain metabolites of silkworm pupae *Bombyx mori*.

Effet de la température sur certains métabolites de la chrysalide du ver à soie *Bombyx mori*.

MADHUKAR V., RAO A.P.

1989 *Comp. Physiol. Ecol.*, Vol. 14(1), 30-33. (E)

Effect of certain pharmacological agents on silkworm heart, *Bombyx mori*.

Effet de certains agents pharmacologiques sur le cœur du ver à soie, *Bombyx mori*.

MADHUKAR V., RAO A.P.

1989 *Comp. Physiol. Ecol.*, Vol. 14(2), 62-66. (E)

Expression of foreign genes in the silkworm, *Bombyx mori*, using a baculovirus vector.
Expression de gènes étrangers chez le ver à soie, *Bombyx mori*, à l'aide d'un baculovirus.
MAEDA S.

1988 *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz Politech. Wroclaw.*, 1043-1051. (E)

Effect of thyroxine on the polyvoltine silkworm, the pure Mysore breed of *Bombyx mori*.
Effet de la thyroxine sur le ver à soie polyvoltin, la souche Mysore pure de *Bombyx mori*.
MAGADUM S.B., HOOLI M.A.

1988 *Environ. Ecol.*, Vol. 6(4), 863-868. (E)

Synthesis of bombyxin-4 an insulin like heterodimeric peptide from the silkworm, *Bombyx mori*.
Synthèse de bombyxine-4, peptide hétérodimérique similaire à l'insuline provenant du ver à soie *Bombyx mori*.

MARUYAMA K., NAGASAWA H., ISOGAL A., TAMURA S., ISHIZAKI H., SUZUKI A.
1990 *Peptides*, Vol. 11, 169. (E)

The complete sequence of mag, a new retrotransposon in *Bombyx mori*.

La séquence complète de mag, un nouveau rétrotransposon chez *Bombyx mori*.

MICHAILLE J.-J., MATHAVAN S., GAILLARD J., GAREL A.

Ctre Génétique Mol. & Cell., Univ. Lyon I, 43 bd du 11/11/18, F-69622, Villeurbanne Cedex.
1990 *Nucleic Acids Research.*, Vol. 18(3), 674. (E)

Production of alpha interferon in silkworm using a baculovirus vector.

Production d'interféron alpha chez le ver à soie à l'aide d'un baculovirus.

OBINATA M.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(8), 355-358. (J)

Insect growth inhibitory constituents from a marine invertebrate *Litophyton* sp.

Constituents inhibiteurs de croissance des insectes chez un invertébré marin *Litophyton* sp.

OCHI M., FUTATSUGI, KUME Y., KOTSUKI H., ASAO K., SHIBATA K.

1988 *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yashishu*, Vol. 30, 204-211. (J)

Endocrine events in the 3rd instar larvae of *Bombyx mori* treated with terpenoid imidazole.

Evènements endocrines chez les larves du 3ème âge de *Bombyx mori* traitées avec un terpénoïde imidazol.

OSHIKI T., MAEDA N., YOKOYAMA T., FUGO H.

Fac. of Agriculture, Tokyo University of Agric. and Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 49-53. (J, e)

Induction of larval-pupal intermediates by single application of terpenoid imidazole.

Induction d'intermédiaires larves-chrysalides après une seule application de terpénoïde imidazol.

OSHIKI T., SUZUKI T., SATO Y., YOKOYAMA T.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 530-531. (J)

Juvenile hormone receptors in insect larval epidermis : identification by photoaffinity labeling.
Récepteurs d'hormone juvénile dans l'épiderme larvaire des insectes : identification à l'aide du marquage par photo-affinité.

PALLI S.R., OSIR E.O., HIRUMA K., PRESTWICH G. D. *et al.*

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98185, USA.

1990 *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 87, 796-800. (E)

In vivo blood compatibility of regenerated silk fibroin.

Compatibilité sanguine *in vivo* de la fibroïne de soie régénérée.

SAKABE H., ITO H., MIYAMOTO T., NOISHIKI Y., HA W. S.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(1), 487-490. (E)

Studies on the extractibility and properties of pupae oil in some races of silkworm *Bombyx mori* L.

Etudes sur l'extraction et les propriétés de l'huile de chrysalide chez certaines souches de vers à soie *Bombyx mori* L.

SARKER A.A., QUADER M.A.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 12-16. (E)

Single site proteolysis in silkworm antitrypsin causes structural changes in behavior against denaturing agents.

La protéolyse sur un seul site dans l'antitrypsine de ver à soie provoque des changements structuraux de comportement contre les agents dénaturants.

SASAKI T., KOHARA A., SHIMIDZU T., KOBAYASHI K.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 139. (J)

Limited proteolysis of silkworm antitrypsin by several proteinases.

Protéolyse limitée de l'antitrypsine du ver à soie par plusieurs protéases.

SASAKI T., KOHARA A., TAKAGI H., SHIMIDZU T.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 131. (J)

Isolation and structures of peptides hormones from the silkworm, *Bombyx mori* : bombyxins-peptides structurally related to insulin.

Isolement et structures des hormones peptidiques du ver à soie *Bombyx mori* : bombyxines structurellement liées à l'insuline.

SUZUKI A., NAGASAWA H.

1989 *Pure Appl. Chem.*, Vol. 61(3), 349-352. (E)

A storage hexamer from *Hyalophora* that binds riboflavin and resembles the apoprotein of hemocyanin.

Un hexamère de stockage chez *Hyalophora* qui fixe la riboflavine et ressemble à l'apoprotéine d'hémocyanine.

TELFER W.H., MASSEY H.C.

1987 *UCLA Symposia on molecular and cell. biol.*, Vol. 49, 305-314. (E)

Purification, characterization and structure of CM2Ph1, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*.

Purification, caractérisation et structure d'un peptide antibactérien de *Bombyx mori*, CM2Ph1.

TU Y., QU X., XU T.

1989 *Sci. China Ser. B.*, Vol. 32(9), 1072-1081. (E)

Variation in olfactory proteins : evolvable elements encoding insect behavior.

Variation dans les protéines olfactives : éléments en évolution codant pour le comportement de l'insecte.

VOGT R.G., PRESTWICH G.D.

1987 *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 510, 689-691. (E)

Determination of the 4K-PTTH titer in hemolymph of silkworm during its mature larval stage.
Détermination de la teneur en 4K-PTTH de l'hémolymphe du ver à soie au cours du dernier stade larvaire.

WANG Z., ZHENG W.

1989 *Kunchong Zhishi*, Vol. 26(4), 229-230. (C)

Determination of juvenile hormone titer in the hemolymph of pupas of indian silkworm, *Philosamia cynthia ricini*.

Détermination du taux d'hormone juvénile dans l'hémolymphe des chrysalides du ver à soie indien, *Philosamia cynthia ricini*.

WANG Z., ZHENG W., GUO F.

1989 *Chin. Sci. Bull.*, Vol. 34(4), 325-329. (E)

The mechanism of the replication of cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm *Bombyx mori*.

Le mécanisme de réplication du virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie *Bombyx mori*.

WU A., SUN Y.

1989 *Curr. Biochem. Res. China*, (1989), 223-232. (E)

Influence of high temperature on activity of lactic dehydrogenase of silkworm.

Influence de la température élevée sur l'activité déshydrogénase lactique du ver à soie.

XIAO J., WU P.

South China Agricultural Univ. Dept. of Sericulture, Guangzhou, China.

1987 *Guangdong Agricultural Science*, Vol. 23-24. (C)

Changes in activities of several enzymes responsible for carbohydrate metabolism in midgut epithelium of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with cytoplasmic polyhedrosis virus.

Changements dans l'activité de divers enzymes responsables du métabolisme des hydrates de carbone dans l'épithélium digestif du ver à soie *Bombyx mori* atteint de polyédrose cytoplasmique.

YAGINUMA T., KOBAYASHI M., KAWASE S.

Lab. of Sericultural Sci., Faculty of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464-01. Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 64-70. (J, e)

Studies on blood esterase isozyme of *Bombyx mori*.

Etudes sur l'isozyme de l'estérase sanguine chez *Bombyx mori*.

YANG R-L., *et al.*

Department of Sericulture, Anhui Agricultural College, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 39-49. (C, e)

Variation of tyrosine aminotransferase activity in the ontogenesis of *Musca domestica* and *Bombyx mori*.

Variation de l'activité de la tyrosine-aminotransférase au cours de l'ontogenèse chez *Musca domestica* et *Bombyx mori*.

ZHIVOTENKO E., KUTUZOVA N.M., FILIPPOVICH Y.B.

1988 *The Soviet Journal of Developmental Biology*, Vol. 19(3), 208-212. (E,R)

Nucleotide sequence of the polyhedrin gene of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.

Séquence nucléotidique du gène de la polyèdrine du virus responsable de la polyédrose nucléaire chez *Bombyx mori*.

ZHOU J., GAN R., LI M., LI Z. XIN J.

1988 *Shengwu Huaxue yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 20(5), 486-491. (C)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms : eggs, embryology

Heat shock effect on testicular carbohydrate profiles in silkworm, *Bombyx mori*.

Effet du choc thermique sur la composition en hydrates de carbone des testicules chez le ver à soie *Bombyx mori*.

BENCHAMIN K. V., VENKATA RAMI REDDY K.

Silkworm Physiology Laboratory, CSR & TI, Mysore, India.

1989 Newsletter, Vol. 4(3), 3. (E)

Scanning electron microscopic studies on the egg surface of tropical tasar silkworm.

Etudes au microscope électronique à balayage de la surface de l'oeuf du ver à soie tasar.

CHATTERJEE S.N., RAO G.P.

Genetics Laboratory, CSR & TI, Mysore, India.

1989 Newsletter, Vol. 4(3), 7-9. (E)

Effect of cyanocobalamin on protein and nucleic acid contents of ovary of silkworm, *Bombyx mori*, during larval, pupal and adult stages of development.

Effet de la cyanocobalamine sur les contenus en protéines et en acide nucléiques des ovaires du ver à soie *Bombyx mori*, au cours des différents stades du développement, larvaires, nymphales et adultes.

DAS S., MEDDA A.K.

1988 Insect Sci. Its Appl., Vol. 9(5), 641-646. (E)

Development of larval ovaries in the brainless male pupa of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae).

Développement des ovaires larvaires chez la chrysalide mâle décérébrée du ver à soie *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae).

FUGO H., SEGAWA M.

Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Japan.

1987 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, Vol. 31(3), 254-257. (J)

Limited degradation of a yolk protein, Vitellin, and a protease in the eggs of the Japanese Oak silkworm, *Antheraea yamamai* (Lepidoptera : saturniidae).

Dégradation limitée d'une protéine de l'oeuf, la vitelline, et d'une protéase dans les oeufs du ver à soie du chêne japonais *Antheraea yamamai* (Lepidoptera : saturniidae).

FURUSAWA T., UEDA T., MITSUDA K.

Ehime Sericultural Experiment Station, Ohzu, Ehime 795, Japan.

1990 Bull. of the Fac. of Textile Sci., Kyoto Inst. of Tech., Vol.14, 1-15. (J,e)

Isolation and expression of the eclosion hormone gene from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Isolément et expression du gène de l'hormone d'éclosion chez le ver du tabac *Manduca sexta*.

HORODYSKI F. M., RIDDIFORD L. M., TRUMAN J. W.

Department of Zoology, NJ-15, University of Washington, Seattle, WA 98195, U.S.A.

1989 *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 86, 8123-8127. (E)

Oviposition in the eri silkworm, *Samia cynthia ricini* (Boisd.) irradiated on the eggs with gamma rays.

Oviposition du ver à soie eri *Samia cynthia ricini* (Boisd.) après irradiation des oeufs aux rayons gamma.

KHAN S.H., KHAN A.R.

Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 61-64. (E)

Selection of egg sensitivity to the hydrochloric acid treatment and its effect to diapause in the silkworm, *Bombyx mori*.

Sélection de la sensibilité de l'oeuf au traitement à l'acide hydrochlorique et effet sur la diapause du ver à soie *Bombyx mori*.

KITAZAWA T., KIGUCHI K., SUGIYAMA H., OHTSUKI Y.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 511-516. (J, e)

Translation and processing of egg specific protein of the silkworm, *Bombyx mori*.

Traduction et formation de la protéine spécifique de l'oeuf du ver à soie *Bombyx mori*.

KOBAYASHI M., INAGAKI S.

1989 *B.B.A.*, Vol. 1009, 129.

A monoclonal antibody against a synthetic carboxyl-terminal fragment of the eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*; characterization and application to immunohistochemistry and affinity chromatography.

Un anticorps monoclonal contre un fragment carboxy-terminal synthétique de l'hormone d'éclosion du ver à soie *Bombyx mori*; caractérisation et application à l'immunohistochimie et à la chromatographie d'affinité.

KONO T., MIZOGUCHI A., NAGASAWA H., ISHIZAKI H., FUGO H., SUZUKI A.

1990 *Zool. Science*, Vol. 7(1), 47. (E)

A short 5'-flanking DNA region is sufficient for developmentally correct expression of moth chorion genes in *Drosophila*.

Une petite région d'ADN flanquante en 5' est suffisante pour l'expression correcte au cours du développement chez la drosophile des gènes du chorion du papillon.

MITSIALIS S.A., SPOEREL N., LEVITEN M., KAFATOS F.C.

1987 *Proc. Nat. Acad. of Sci. New York*, Vol. 84(22) 7987-7991. (E)

Detection of polyploid and mixoploid in embryos of the silkworm by flow cytometry.

Détection de la polypléidie et de la mixopléidie chez les embryons du ver à soie par cytométrie de flux.

NAKAGAKI M., TAKEI R., KODAIRA R., NAGASHIMA E.

Faculty of Textile Science and Tech., Shinshu Univ., Ueda 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 71-77. (J, e)

Microinjection of recombinant DNAs in the early embryos of the silkworm, *B. mori*.
 Micro-injection d'ADNs recombinants dans les embryons précoces du ver à soie *B. mori*.
 NIKOLAEV A.I., CHKONIYA T.T., SEMENOVA N.A. *et al.*
 1989 *Mol. Biol. (Moscou)*, Vol. 23(4), 1177-1187. (R)

Egg productivity and hatchability by acid-treatment in the parent silkworms of N150 × C150 (Oowashi).
 Production et éclosion d'oeufs par traitement à l'acide chez les parents du ver à soie N150 × C150 (Oowashi).
 NOJIRI K., HIRATA Y.
 1990 *Acta Sericologica and Entomologica*, Vol. 2, 1-6. (J)

Effect of various concentrations of ascorbic acid on the oviposition and hatchability of silkworm (*Bombyx mori* L.).
 Effet de plusieurs concentrations d'acide ascorbique sur l'oviposition et l'éclosion du ver à soie *Bombyx mori* L.
 RANMAN S. M., KHANAM L.A.M., FERDOUS J.
 Department of Zoology, Rajshahi University, Bangladesh.
 1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 47-50. (E)

Relationship between hatchability and condition of preservation of eggs produced by the silkworm reared on artificial diet.
 Relation entre le taux d'éclosion et les conditions de conservation des oeufs produits par le ver à soie élevé sur aliment artificiel.
 SASAHARA S., NIINO T.
 1990 *Acta Sericologica and Entomologica*, Vol. 2, 7-22. (J)

Cold storage after common acid-treatment of eggs produced by the silkworm reared on artificial diet.
 Stockage au froid après traitement courant à l'acide des oeufs produits par le ver à soie élevé sur aliment artificiel.
 SASAHARA S., NIINO T.
 1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 33-43. (J)

Post-translational processing in the synthesis of egg specific protein in the silkworm : *Bombyx mori*.
 Processus post-traductionnel dans la synthèse d'une protéine spécifique de l'oeuf chez le ver à soie *Bombyx mori*.
 SATO Y., YAMASHITA O.
 1989 *Insect. Biochem.*, Vol. 19, 293. (E)

Silkmoth chorion antisense RNA. Structural characterization. Developmental regulation and evolutionary conservation.
 ARN antisens du chorion du papillon. Caractérisation de la structure. Régulation au cours du développement et conservation au cours de l'évolution.
 SHEIKY Y.A.W., IATROUK.
 1990 *J. Mol. Biol.* 213, 53-66. (E)

Possible involvement of GABA ergic neurons in regulation of diapause hormone secretion in the silkworm, *Bombyx mori*.

Rôle possible des neurones GABA-ergiques dans la régulation de la sécrétion d'hormone pendant la diapause chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SHIMIZU I., MATSUI T., HASEGAWA K.

1989 *Zool. Sci.*, Vol. 6(4), 809-812. (E)

Studies on embryonic diapause in the pnd mutant of the silkworm, *Bombyx mori* : characterization of protein synthesis during early development.

Etudes sur la diapause embryonnaire chez le mutant pnd du ver à soie *Bombyx mori* : caractéristique de la synthèse protéique au cours du développement précoce.

SONOBE H.

1989 *Zool. Sci.*, Vol. 6(3), 515-521. (E)

Gene evolution and regulation in the chorion complex of *Bombyx mori*. Hybridization and sequence analysis of multiple developmentally middle A/B chorion gene pairs.

Evolution et régulation des gènes du complexe chorionique de *Bombyx mori*. Hybridation et analyse des séquences des paires de gènes multiples du développement intermédiaire.

SPOEREL N.A., NGUYEN H.T., EICKBUSH T.H., KAFATOS F.C.

1989 *J. Mol. Biol.* Vol. 209, 1. (E)

Fuel mobilization for energy metabolism in the silkworm, *Bombyx mori*, during reproductive processes.

Mobilisation de combustible pour le métabolisme énergétique chez le papillon *Bombyx mori* au cours des processus de reproduction.

UDAPUDI K.T., YADWAD V.B., JADHAV G., KALLAPUR V. L.

1989 *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 27, 732. (E)

Preservation of silkworm eggs produced in early winter rearing season at Miyazaki - Hatchability of acid-treated eggs and it's rearing results.

Conservation des oeufs de ver à soie produits au début de la saison d'élevage d'hiver à Miyazaki - Taux d'éclosion des oeufs traités à l'acide et résultats de leur élevage.

WADA T.

1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 87-92. (J)

Sterility in the apodal silkworm, *Bombyx mori*.

Stérilité du ver à soie apode *Bombyx mori*.

WILAI S., SUGAI E., OSHIKI T.

Fac. of Agriculture, Tokyo University of Agric. and Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 54-58. (J, e)

The variations of lipids of silkworm egg shell in different storage temperatures.

Les variations en lipides de la coque des oeufs du ver à soie sous différentes températures de stockage.

WU D-Y.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 52-53. (C)

Metabolic shift related to embryonic diapause of *Bombyx mori* : temperature directed sorbitol metabolism.

Changement métabolique lié à la diapause embryonnaire chez *Bombyx mori* : la température régit le métabolisme du sorbitol.

YAMASHITA O., YAGINUMA T., KOBAYASHI M., FURUSAWA T.

1988 *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wroclaw*, Vol. 33(8), 263-275. (E)

Localization of Cl⁻ in the egg of the silkworm, *Bombyx mori*, treated with HCl.

Localisation de l'ion Cl⁻ dans l'oeuf du ver à soie *Bombyx mori* traité à l'HCl.

YOSHIMI T., FURUSAWA T., YAMASHITA O.

Dept. Applied Biol., Fac. Textile Sci., Kyoto Inst. of Tech. Matsugasaki, Sakyo-ku, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 14-21. (J,e)

Extraction and estimation of the biological activity of the diapausehormone in *Bombyx mori*.

Extraction et évaluation de l'activité biologique de l'hormone de diapause chez *Bombyx mori*.

ZHOU L. *et al*

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 56. (C)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Specific expression of a silk-encoding gene of *Bombyx* in the anterior salivary gland of *Drosophila*.

Spécificité de l'expression d'un gène de la soie de *Bombyx* dans la partie antérieure de la glande salivaire de la drosophile.

BELLO B., COUBLE P.

Univ. C. Bernard-Lyon I, Ctr Génét. Mol. & Cell. 42 bd du 11/11/18, 69622 Villeurbanne, F.
1990 *Nature*, 1990, Vol. 346(6283), 480-482. (E)

Spider silk glands contain a tissue-specific alanine tRNA that accumulates *in vitro* in response to the stimulus for silk protein synthesis.

Les glandes séricigènes de l'araignée contiennent un ARNt alanine spécifique du tissu qui s'accumule *in vitro* en réponse au stimulus de la synthèse de la protéine de la soie.

CANDELAS G.C., ARROYO G., CARRASCO C., DOMPENCIEL R.

Dept. of Biol., Univ. of Puerto Rico, Rio Piedras, Puerto Rico 00931.
1990 *Developmental Biology*, Vol. 140, 215-220. (E)

Features of the cell free translation of a spider fibroin mRNA.

Caractéristiques de la traduction en système acellulaire de l'ARNm de la fibroïne de l'araignée.

CANDELAS G. C., ORTIZ A., ORTIZ N.

1989 *Biochemistry & Cell Biology*, Vol. 67, 173-176. (E)

***In vivo* C-13 NMR study of the silk fibroin synthesis in the silkworm.**

Etude *in vivo* par RMN C-13 de la synthèse de la fibroïne chez le ver à soie.

DEMURA M., ASAKURA T., OSANAI M.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Tech., Tokyo 184, Japan.
1989 *Reports on Progress in Polymer Physics in Japan*, Vol. 32, 609-612. (E)

Spinning apparatus of the spider, *Filistata insidiatrix* (Araneae : Filistatidae).

Appareil de filage de l'araignée *Filistata insidiatrix* (Araneae : Filistatidae).

HAJER J.

Dept. of Biol., Pedagogical Faculty České mládeže 8, 400 96 Usti nad Labem, Czechoslovakia.
1989 *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, Vol. 86(6), 401-413. (E)

Cloning and characterization of the highly polymorphic Ser2 gene of *Bombyx mori*.

Clonage et caractérisation du gène Ser2 hautement polymorphique de *Bombyx mori*.

MICHAÏLLE J.-J., GAREL A., PRUD'HOMME J.-C.

Ctre Génétique Mol. & Cell. Univ C. Bernard Lyon I., F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

1990 *Gene*, Vol. 86, 177-184. (E)

Regulation of expression of silk encoding genes in *Bombyx mori*.

Régulation de l'expression des gènes de la soie chez *Bombyx mori*.

PRUD'HOMME J.-C.

1988 *Pr. Nauk. Inst. Chem. Org. F12 Politech. Wroclaw*, 1053-1054. (E)

Components and interactions required for transcription of an alanine tRNA gene in the silkworm, *Bombyx mori*.

Composants et interactions nécessaires pour la transcription d'un gène d'ARNt alanine chez le ver à soie *Bombyx mori*.

RIVIER D. H.

1988 *Thèse* 133 p. (E)

Fibroin protease which appear in the silk gland from the pharate adult of the silkworm, *Bombyx mori*.

Protéase de fibroïne apparaissant dans la glande séricigène du pré-adulte chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SUMIDA M., UKAI M., MORI H.

Faculty of Textile Science, Kyoto, Japan.

1989 *Bull. of the Apparel Sci. Research Center*, Vol. 8, 5-8. (E, j)

A contribution of the core-promoter and its surrounding regions to the preferential transcription of the fibroin gene in posterior silk gland extracts.

Contribution de la partie centrale du promoteur et des régions environnantes à la transcription préférentielle du gène de la fibroïne dans les extraits de la glande séricigène.

TAKIYA S., HUI C.-C., SUZUKI Y.

Dept. of Develop. Biol., National Inst. for Basic Biol., Myodaiji, Okazaki, 444 Japan.

1990 *The Embo Journal*, Vol. 9(2), 489-496. (E)

The complete sequence of the 5S rRNA from the silk gland of *Philosamia cynthia*.

La séquence complète de l'ARNr 5S de la glande séricigène de *Philosamia cynthia*.

ZHOU X., YI W., HUANG J., GU X., QI G.

1988 *Shengwu Huaxue Zazhi*, Vol. 4(6), 502-507. (C)

Soie

Silk

The structure of silk fibroins and enzyme immobilized membrane for biosensor using the silk fibroins.

Structure des fibroïnes et de la membrane pour fixation d'enzymes dans le cas d'un biodétecteur utilisant les fibroïnes.

ASAKURA T., DEMURA M.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(6), 252. (J)

Immobilization of enzymes on silk fibers.

Immobilisation d'enzymes sur des fibres de soie.

ASAKURA T., KANETAKE J.

1989 *Kobunshi Kako*, Vol. 38(5), 235-239. (J)

Dissolution mechanism of *Bombyx mori* silk fibroin in a calcium chloride aqueous solution studied with carbon 13 proton and calcium 43 NMR spectroscopies.

Mécanisme de dissolution de la fibroïne de *Bombyx mori* dans une solution aqueuse de chlorure de calcium étudié par spectroscopie RMN du carbone 13 et du calcium 43.

ASAKURA T., NAKAYAMA N.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(6), ? (J)

Conservation of material, energy and labor in the degumming of natural silk Textiles.

Economie de matériel, d'énergie et de travail dans le décreusage des tissus de soie naturels.

BRZEZINSKI S., MALINOWSKA G.

1989 *Prsegl. Wlok.*, Vol. 43(4), 160-164. (P)

CD and small-angle Xray scattering of silk fibroin in solution.

CD et analyse de dispersion aux rayons X sous angles faibles de la fibroïne en solution.

CANETTI M., SEVES A., SECUNDO F.

1989 *Biopolymers*, Vol. 28(9), 1613-1624. (E)

Immobilization of peroxidase with a *Bombyx mori* silk fibroin membrane and its application to biophotosensors.

Immobilisation de la peroxydase sur une membrane de fibroïne de *Bombyx mori* et ses applications à des biophotosenseurs.

DEMURA M., ASAKURA T., NAKAMURA E., TAMURA H.

1989 *J. Biotechnol.*, Vol. 10(2), 113-119. (E)

Lipids in cocoon shell of the silkworm, *Bombyx mori*.

Les lipides dans la coque soyeuse du ver à soie *Bombyx mori*.

FURUSAWA T.

Faculty of Textile Sciene, Tokyo, Japan.

1989 *Bull. of the Apparel Sci. Research Center Kyoto Inst. Tech.*, Vol. 8, 9-15. (J,e)

Silk : the ultimate fiber.

Soie : la dernière fibre.

GAFFEY T.

1987 *Yarn market news*, Vol. 10(4), 39-49. (E)

Studies on physical properties of weighting silk treated by water soluble fibroin.

Etudes sur les propriétés physiques de la soie traitée avec de la fibroïne soluble dans l'eau.

GUOLIAN H., MITSUO A., KIYOSHI H.

Fac. of Technology, Tokyo University of Agric. and Tech., Koganei, Tokyo, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 26-33. (J, e)

Chemistry, structure and physical properties of silk.

Chimie, structure et propriétés physiques de la soie.

HIRABAYASHI K., ASAKURA T.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(11), 463-468. (J)

Edible silk gel.

Gel de soie comestible.

HIRABAYASHI K., WATANABE M. SUZUKI M.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(6), 263-267. (J)

Solvent and mechanical treatment induced conformational transition of silk fibroins studies by high resolution solid state carbon 13 NMR spectroscopy.

Transition de conformation des fibroïnes de soie induite par traitement mécanique et solvant étudiée par spectroscopie NMR au carbone 13 en état solide à haute résolution.

ISHIDA M., ASAKURA T., YOKOI M., SAITO H.

1990 *Macromolecules*, Vol.23(1), 88-94. (E)

Nuclear magnetic resonance study on the relationship between the helicity and L-alanine content of L-alanine/D-alanine random copolypeptides in connection with silk fibroin conformation.

Etude à l'aide de la résonnance magnétique nucléaire sur la relation entre l'hélicité et le contenu en L-alanine dans les copolypeptides L-alanine/D-alanine obtenus au hasard en liaison avec la conformation de la fibroïne.

KASHIBA H., ASAKURA T., KOMOTO T.

1989 *Makromol. Chem.*, Vol. 190 (4), 811-818. (E)

Trial for production of silk fishing line.

Essai de production de fil de pêche en soie.

KATO H., YAMAMOTO H., YASUDA K.

1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 63-70. (J)

Role of light in the green pigmentation of cocoons of *Antheraea yamamai*.

Rôle de la lumière dans la pigmentation verte des cocons d'*Antheraea yamamai*.

KATO Y., ONUMA Y., SAKURAI K., YAMADA H.

1989 *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 24, 398-406. (E)

The swelling phenomena of silk accompanying solvation and diffusion by organic solvents.

Les phénomènes du gonflement de la soie qui accompagnent la dissolution et la diffusion par les solvants organiques.

KITAMURA A., SHIBAMOTO A., DEMURA M.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agric. and Tech., Koganei, Tokyo 184, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 43-48. (J, e)

Solid state carbon 13 nuclear magnetic resonance and chemical analyses of insect non cuticular sclerotized support structures : mantid oothecae and cocoon silks.

Résonance magnétique nucléaire au carbone 13 à l'état solide et analyses chimiques des structures supports sclérifiées non cuticulaires d'insectes: oothèques de mantidés et soies.

KRAMER K.J., BORK V., SCHAFFER J., MORGAN T.D., HOPKINS T.L.

1989 *Insect. Biochem.*, Vol. 19, 69-77. (E)

Investigation of the liquid-crystal state in silk fibroin.

Recherche de l'état cristal liquide dans la fibroïne.

LI G., YU T.

1989 *Makromol. Chem. Rapid. Commun.*, Vol. 10(8), 387-389. (E)

Refining mulberry silk with protease and lipase.

Soie mûrier raffinée avec de la protéase et de la lipase.

LIU Q., ZHANG X., YUE K., WANG C.

1989 *Fangshi Xuebao*, Vol. 10(3), 116-119. (C)

Influence of sodium acetate on the rate of dyeing with levelling type acid dye for silk.

Influence de l'acétate de sodium sur le taux de teinture de la soie avec un colorant de type acide.

NAKAJIMA T., SHIMIZU Y., SHIKATA M., KIMURA M., MINAGAWA M.

Koka Women's Junior College, Ukyo-ku, Kyoto 615, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 22-25. (J, e)

Elastic modulus of the crystalline regions of silk fibroin.

Coefficient d'élasticité des régions cristallines de la fibroïne.

NAKAMAE K., NISHINO T.

1989 *Polymer*, Vol. 30(7), 1243-1246. (E)

Attack of dermestid beetles on the raw silk treated with glutaraldehyde.

Attaque des dermestes sur la soie grège traitée avec de la glutaraldéhyde.

NAKAMOTO N.

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Yokoyama, Agric. and Forest. Inst. Japan.

1987 *Research Reports of the Raw silk Testing*, Vol. 40, 157-162. (J)

Silk fibroin product development.

Développement d'un produit de la fibroïne.

NAKAYAMA H.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45(6), 258-262. (J)

Characteristics of the knot count in the arbitrary fixed area of the shantung cloth.

Dénombrement des noeuds sur une surface de tissu shantung arbitrairement délimitée.

NISHIOKA T., SHIMAZAKI A., WATANABE K., MITSUNAO H.

Shinsyu University, Ueda 386, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 474-482. (J, e)

Dynamic features of side chains in tyrosine and serine residues of some polypeptides and fibroin in the solide as studied by high resolution solid state carbon 13 NMR spectroscopy.

Caractéristiques dynamiques des chaînes latérales des résidus tyrosine et sérine de certains polypeptides et de la fibroïne à l'état solide étudiées par spectrométrie RMN au carbone 13 à l'état solide à haute résolution.

SAITO H., ISHIDA M., YOKOI M., ASAKURA T.

1990 *Macromolecules*, Vol. 23(1), 83-88. (E)

A time-series analysis of raw silk price.

Une analyse en série des prix de la soie grège.

SHINTANI M., ONO N.

Tokyo Univ. of Agriculture and Technology, Fuchu Faculty of Agriculture, Japan.

1987 *Journal of Rural Economics*, Vol. 58(4), 200-210, 250. (J)

Development of a computer control system of the cocoon cooking process.

Développement d'un système de contrôle informatisé du processus d'étouffage du cocon.

TAKABAYASHI C.

The National Inst. of Seric. and Entomol. Science, Okaya City, Nagano 394, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(6), 483-492. (J, e)

Studies on some physical properties and structural characteristics of methyl-methacrylate grafted silk fiber.

Etudes sur certaines propriétés physiques et certaines caractéristiques structurales de la fibre de soie greffée avec du méthyl-méthacrylate.

TSUKADA M.

1988 *Journal of applied polymer science*, Vol. 35(4), 965-972. (E)

Formation and physical properties of cocoon filament.

Formation et propriétés physiques du filament du cocon.

TSUKADA M., GOTO Y., ISHIKAWA H.

National Inst. of Sericultural and Entomol. Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(1), 59-63. (J, e)

Application of the NICOLET quantitative analysis program and attenuated total reflection technique - study on structural changes in tussah silk after irradiation.

Application du programme d'analyse quantitative NICOLET et des techniques d'atténuation de la réflexion totale. Etude sur les changements de structure de la soie tussah après irradiation.

WANG B., HOU D., KUANG Y., HOU Y.

1989 *Fenxi Huaxue*, Vol. 17(9), 769-773. (C)

Effect of treatment with wet steaming of cocoon on sericin solubility and mechanical properties of silk.

Effet de l'étouffage des cocons à la vapeur sur la solubilité de la séricine et les propriétés mécaniques de la soie.

XU X., YUAN L., LIN J., GUONG G.

1989 *Fangzhi Xuebao*, Vol. 10(5), 221-223. (C)

Dyeing of the silk / cashmilon composite material.

Teinture du composite soie / cashmilon.

YASUDA K.

1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 71-86. (J)

Development of silk tow for silk spun materials.

Développement de filasse de soie pour les matériels filés.

YOKOZAWA M., OBO M., AKAHANE T.

1990 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 2, 109-119. (J)

Plot sampling of silkworm cocoon by using computer stimulated test.

Echantillonnage de cocons de vers à soie à l'aide d'un test stimulé par ordinateur.

ZHANG Z-F. *et al.*

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(1), 54-55. (C)

Raman spectroscopic investigation of the denaturation process of silk fibroin.

Etude spectroscopique Raman sur le processus de dénaturation de la fibroïne.

ZHENG S., LI G., YAO W., YU T.

1989 *App. Spectrosc.*, Vol. 43(7), 1269-1272. (E)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.
- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.
- Remerciements.
- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11) Un bon de commande de tirés-à-part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés-à-part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

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

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

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

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

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.

- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

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

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

- Acknowledgements.

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

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

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

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

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

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

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

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

Illustrations should not be larger than 14 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 25 free reprints are sent by the Editor.
