

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)
COUBLE P. (France)
DATTA R.K. (Inde / India)
DOIRA H. (Japon / Japan)
FOURCHE J. (France)
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)
XIA J-G. (Chine / China)

OAK TASAR CULTURE IN INDIA - ITS PROBLEMS AND PROSPECTS

R.K. GOEL

Central Tasar Research & Training Institute, Research Extension Centre, P.O. Bir - 176077 (H.P.), India.

*Non-mulberry silks of commercial significance are produced by the insects belonging to the family Saturniidae. It comprises the largest group of sericigenous insects belonging to the genera *Antheraea*, *Philosamia* and *Attacus*. Among the various species recorded, only a few are being exploited for commercial silk production, viz. *Antheraea pernyi* (China), *Antheraea yamamai* (Japan), *Antheraea assamensis*, *A. mylitta* D. and *A. proylei* J. (India). The tropical tasar, *Antheraea mylitta* D. is the traditional non-mulberry silk of India and forms a distinct belt of humid and dense forests stretching over the central and southern plateau while the temperate tasar, *A. proylei* J. is of recent origin. It is being cultivated in the entire sub-Himalayan belt which has two distinct ecological niches - the north-west and north-east regions which have wide disparity in their topography and agro-climatic conditions ; the former being temperate with severe cold and longer winters and the latter sub-temperate with excessive rainfall and shorter summers.*

Keywords : *Antheraea proylei* J., host plants, silkworm rearing, diseases, pest, predators, ethiology.

ECOLOGY OF THE OAK TASAR SILKWORM

The oak tasar silkworm is a semi-domesticated insect (but completely domesticated in the north-west) exhibiting weak bivoltinism. Generally, the first crop rearing starts from the first/second week of March in the spring season (hence termed spring crop rearing) and the second crop rearing in autumn (autumn crop rearing).

This insect develops through four stages in a cyclic manner, viz. egg, larva, pupa and adult. Each cycle takes about 60-65 days from cocoon to cocoon stage. Its life-cycle starts with the moth emergence from seed cocoons in the month of February. The male and female moths couple during the late night hours or early morning hours. After 5-6 hours, the moths are decoupled and the females are kept for egg laying. In about 72 hours, more than 90 % eggs are laid which are considered for incubation. The eggs are properly washed and disinfected with 5 % formalin. After drying, they are incubated at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ temperature and 70-80 % relative humidity under most aseptic conditions for 7 to 8 days. The newly hatched worms, just after hatching, eat up the egg chorion and then feed upon oak leaves when mounted. The suitable rearing temperature and humidity are $20-25^\circ\text{C}$ and 70-75 % respectively. The temperature below 20°C and above 25°C is harmful for the larval health. The oak tasar larva is also a tetramoulter, i.e. it passes through four moults and five instars. The average larval period varies from 35 to 50 days depending upon the variable factors. The average weight of the mature larva is about 20 g, denoting an increase of about 3,000 fold. The leaf consumption throughout the larval span is about 72 g per larva. After the larval stage, the larva spins the cocoon and pupates inside. In this way, its life cycle continues.

The fecundity in the oak tasar silkworm is quite low. On average, it is only 100-120 eggs but varies from 50 to 350 in individual cases. The eggs are non-diaapausing but can be effectively

refrigerated for about 17 days without any adverse effect on hatching or rearing performance.

OAK TASAR HOST PLANTS

The oak tasar silkworm is polyphagous in nature, thriving on a variety of oak flora for minimum requirements of essential elements such as carbon, nitrogen, phosphorus, sulphur, etc., which vary from plant to plant. Accordingly, some plants are of primary importance to the silkworms (primary food plants) and others of secondary choice (secondary food plants). The main oak species on which the silkworm survives are :

Species	Altitude	Distribution
<i>Quercus incana</i>	3,000' ASL and above	J. & K., U.P., H.P.
<i>Quercus himalayana</i>	4,500 - 9,000' ASL	North-western sub-Himalayan belt from Kumaon to Kashmir
<i>Quercus serrata</i>	2,500 - 6,000' ASL	Manipur, Nagaland, Mi oram, Assam, Arunachal Pradesh, Meghalaya
<i>Quercus dealbata</i>	2,500 - 6,000' ASL	Manipur, Nagaland, Mi oram, Meghalaya
<i>Q. grifithi</i>	3,000 - 12,000' ASL	Manipur, Nagaland, Mi oram, Meghalaya, Arunachal Pradesh
<i>Q. semicarpifolia</i>	6,000 - 12,000 ASL	J. & K., U.P., Arunachal Pradesh

Primarily, the silkworm feeds upon *Quercus serrata*, *Q. incana* and *Q. semicarpifolia* but can survive on *Q. dealbata*, *Q. grifithi* and *Q. himalayana* besides some other food plants. The leaf quality remains appropriate for a specific period and thereafter deteriorates considerably, resulting in high larval mortality. Chemically, it is reported that crude fibres, tannins and mineral contents increase by several folds while moisture content declines with the maturation of the oak leaves. As the silkworm lacks any chemical or mechanical mechanism for digestion of crude fibres, it is considered one of the factors responsible for higher larval mortality.

Table I. Chemical composition of the leaves of oak food plants.

Tableau I. Composition chimique des feuilles des chênes nourriciers.

	Moisture Humidité	Total mineral Minéraux totaux	Crude fibres Fibres brutes	Crude protein Protéines brutes
<i>Q. serrata</i>	65.31	4.07	18.20	12.348
<i>Q. dealbata</i>	65.78	4.17	25.83	12.142
<i>Q. grifithi</i>	71.33	4.25	20.67	11.862
<i>Q. incana</i>	NA	2.99	21.65	13.630
<i>Q. himalayana</i>	NA	3.85	25.20	12.834

N.B. : Percentage on oven dry basis / Pourcentage calculé sur le poids après séchage au four.

Since the leaf quality plays a very significant role in the success of silkworm rearing, it is desirable to avoid the use of mature or over-mature foliage either by isolating early sprouting oak variety or by manipulating pruning and defoliation to induce leaf sprouting earlier than natural sprouting. In addition to this, some improved artificial/semi-artificial diets have to be developed as is the case in Japan or in other countries for the rearing of early stage worms, i.e., chawkie rearing could be done on this diet and thereafter the larvae shifted to newly sprouted tender leaves for better and successful crop.

REARING OF *ANTHERAEA PROYLEI* J.

The natural abode of the oak tasar silkworm is temperate and hence the silkworms fall an easy prey to various diseases under high temperature conditions. Precisely speaking, three factors, viz. rearing season, altitude for the rearing site and host plant variety are of paramount importance for a successful silkworm rearing.

In the north-eastern region, the spring crop is the main seed/commercial crop which is taken on *Q. serrata* from the first/second week of March when climatic conditions are conducive. However, an additional crop can be taken up during summer or autumn by breaking the pupal diapause and making the foliage suitable by giving appropriate pruning to the plants. In the north-west, a concept of low-middle-high altitude rearing is found workable to raise successful seed and commercial crops. The low altitude rearing (Feb./Mar.) on *Q. incana* followed by high altitude rearing (Jun./Jul.) on *Q. semicarpifolia* are two seed crops while the middle altitude rearing (April/May) on *Q. incana* the commercial crop.

a. Rearing technologies :

Presently, two types of rearings are done in oak tasar - complete indoor rearing in the north-west and outdoor rearing in the north-east.

In the outdoor rearing, under natural conditions, the larvae after hatching are mounted on small twigs which are placed in tins/pitchers/bottles and after the first moult transferred to the oak bushes outdoors. They are allowed to grow there under proper watch and ward to check the attack of pest and predators. Proper hygienic conditions are maintained at the rearing site. The use of nylon nets ensures a better effective rate of rearing. Moreover, it checks the attack of pest and predators to some extent and saves them from natural hazards.

The complete indoor rearing of *A. proylei* from the first stage to spinning is practised in the north-western region because of lofty oak trees and favourable environmental factors. The newly hatched worms are allowed to crawl on small twigs which are placed on the ground itself with waste paper beneath. In the first instar, only one feeding per day is sufficient but in the advanced stages at least 2-3 feedings are required for proper growth of the larvae. Daily cleaning of the bed and maintenance of hygienic conditions in the rearing room are desirable.

As the silkworm larva is very sensitive to external stimuli, the care should be taken to avoid any excessive handling or disturbance. The oak tasar larva starts feeding from the margin of the leaf blade and proceeds towards the midrib. Generally, it does not take up the midrib and petiole. While feeding, the larva holds the leaf blade or midrib or leaf petiole with the help of its claspers and abdominal legs. The average feeding duration in a stretch is about 30 minutes but it does not extend beyond one hour. The leaf requirements of young and mature larvae differ markedly. On average, a first instar larva consumes only 0.21 g leaf in comparison to 60.33 g in the final stage with a total requirement of 72.83 g per larva.

The oak tasar larva thrives well between a temperature of 20-25°C and can survive up to 30°C above which heavy larval mortality occurs. The early stages require higher humidity (80-90 %) than the advanced stages (70-80 %). Young larvae relish green juicy leaves but tender leaves of pale green colour are injurious to their health. Early stages should be fed with tender leaves and advanced stages with medium maturity leaves. The mature/over-mature foliage should be avoided.

b. Diseases, pest and predators :

A. proylei silkworm suffers from three types of diseases :

1. Virosis.
2. Bacteriosis.
3. Mycosis.

The extent of the loss due to these diseases in different seasons may be as high as cent per cent in case proper precautionary measures are not observed. Like tropical tasar, *A. proylei*, is infested by various pests, such as tachinid/uzi fly, ichneumon fly, wasps, canthecona bug, reduviid bug, ants and mantis but the incidence is comparatively low. However, the uzi fly is a serious parasite on the oak tasar silkworm in the north-east and damages crops to the tune of 40 % or more.

PROBLEMS

Though Nature has bestowed India with a huge oak flora, its geographical position and topography do not provide very congenial conditions for oak tasar culture. The development of oak tasar industry is lagging behind although some of the basic problems have successfully been solved. It is beset with a number of problems, viz. oak plants are slow growing, the nutritive status of the leaves deteriorates considerably within a short span with the ageing of foliage, lower yield per hectare, low fecundity and hatchability, uncertain behaviour of seed and stock, lack of improved packages of practices, etc. As in China, where univoltine and bivoltine zones are earmarked and two strains of *A. proylei* suited to these zones are available, there is need to earmark these areas in India as per the altitudinal and environmental schedules. In bivoltines areas, the crop should be a seed crop followed by a large-scale commercial crop whereas in univoltine areas only commercial crop should be taken. The isolation of univoltine and bivoltine strains will certainly help in resolving the seed cocoon preservation problem. In short, special attention is needed on the following lines :

1. Selection and propagation of early sprouting oak species.
2. Shortening the long gestation period in oak plants.
3. Improving the leaf quality through its growth phase.
4. Developing artificial/semi-artificial diet for early stage rearing.
5. Isolating univoltine and bivoltine strains of *A. proylei*.
6. Improving the qualitative and quantitative characters of *A. proylei*.
7. Evolving packages of practices for improved silkworm rearing.
8. Improving the technological properties of oak tasar silk.

CONCLUSION

In spite of the fact that the Indian oak tasar industry is beset with a lot of problems, it has got immense potential for development. Oak flora is in abundance, there is no dearth of human resources in the oak tasar belt and the oak tasar silk fibre is comparable to that of mulberry or muga with respect to its lustre and grace. If a systematic approach is made, this industry will not only cater the need of internal market but also provide meaningful avocation to the backward sector of the society in remote hilly areas where other employment opportunities are quite meagre.

ELEVAGE DU VER A SOIE TASAR DU CHENE EN INDE : PROBLEMES ET PERSPECTIVES

R.K. GOEL

Central Tassar Research & Training Institute, Research Extension Centre, P. O. Bir - 176077
(H.P.), Inde.

*Les soies non-mûrier commercialisées sont produites par les insectes appartenant à la famille des Saturniidae. Elle comprend un groupe étendu d'insectes séricigènes appartenant aux genres **Antheraea**, **Philosamia** et **Attacus**. Parmi les diverses espèces connues, seul un petit nombre est utilisé pour la production de soie au niveau commercial à savoir, **Antheraea pernyi** (Chine), **Antheraea yamamai** (Japon), **Antheraea assamensis**, **A. mylitta** D. et **A. proylei** J. (Inde). Le ver à soie tassar tropical **Antheraea mylitta** D. produit la soie non-mûrier traditionnelle d'Inde et se trouve dans la ceinture de forêts humides et denses s'étendant le long des plateaux du centre et du sud alors que le ver à soie tassar tempéré **A. proylei** J. est d'origine récente. Il est élevé dans toute la ceinture sub-himalayenne qui offre deux niches écologiques bien distinctes - les régions du nord-ouest et du nord-est qui sont très disparates dans leur topographie et leurs conditions agro-climatiques, la première étant tempérée avec des froids rigoureux et de longs hivers et la seconde sub-tempérée avec une pluviométrie importante et des été courts.*

ECOLOGIE DU VER A SOIE TASAR DU CHENE

Le ver à soie tassar du chêne est un insect semi-domestiqué (mais complètement domestiqué dans le nord-ouest) à faible bivoltinisme. En général, le premier élevage (élevage de printemps) commence au cours de la première/seconde semaine de mars au printemps et le second (élevage d'automne) a lieu en automne.

Cet insecte se développe en quatre stades de façon cyclique, à savoir : oeuf, larve, chrysalide et adulte. Chaque cycle dure environ 60-65 jours de cocon à cocon. Ce cycle vital démarre à l'émergence des cocons en février. Le papillon mâle et le papillon femelle s'accouplent tard dans la nuit ou tôt le matin. Après 5-6 heures, les papillons sont séparés et les femelles sont isolées pour la ponte. Au bout de 72 heures, plus de 90 % des oeufs sont pondus et mis à incuber. Les oeufs sont soigneusement lavés et désinfectés avec une solution de formol à 5 %. Après séchage, ils sont incubés à une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et 70-80 % d'humidité dans des conditions les plus aseptisées possibles pendant 7-8 jours. Les vers nouvellement éclos mangent le chorion de l'oeuf et se nourrissent de feuilles de chêne lorsqu'ils sont montés. La température d'élevage et l'humidité favorables sont respectivement de $20-25^\circ\text{C}$ et 70-75 %. Une température inférieure à 20°C ou supérieure à 25°C est dangereuse pour la larve. La larve tassar du chêne est tétramante, c'est-à-dire qu'elle effectue quatre mues en 5 stades. La période larvaire moyenne varie entre 35 et 50 jours en fonction de facteurs variables. Le poids moyen de la larve à maturité est de 20 g, ce qui équivaut à un taux de croissance de 3 000. La consommation de feuilles au cours du développement larvaire est de 72 g par larve. Après le stade larvaire, la larve file son cocon et se nymphose à l'intérieur. Son cycle continue à l'intérieur.

La fécondité chez le ver à soie tassar du chêne est très faible. On compte en moyenne seulement 100-120 oeufs mais cela varie de 50 à 350 selon les individus. Les oeufs sont non-diapausants mais

peuvent effectivement être réfrigérés pendant environ 17 jours sans que cela ait d'effet néfaste sur l'éclosion ou les performances d'élevage.

PLANTES HOTES DU VER A SOIE TASAR DU CHENE

Le ver à soie tassar du chêne est polyphage, se développant sur diverses variétés de chêne afin de puiser les éléments essentiels, tels que le carbone, l'azote, le phosphore, le soufre, etc., qui varient d'une plante à une autre. Certaines plantes sont primordiales pour les vers à soie (plantes alimentaires primaires) et d'autres de second choix (plantes alimentaires secondaires). Le ver à soie du chêne survit sur la plupart des espèces suivantes :

Espèces	Altitude	Distribution
<i>Quercus incana</i>	3 000 m et plus	J & K., U.P., H.P.
<i>Quercus himalayana</i>	4 500 m 9 000 m	Ceinture sub-himalayenne nord-ouest de Kumaon au Cachemire.
<i>Quercus serrata</i>	2 500 - 6 000 m	Manipur, Nagaland, Mi oram, Assam, Arunachal Pradesh, Meghalaya
<i>Quercus dealbata</i>	2 500 - 6 000 m	Manipur, Nagaland, Mi oram, Meghalaya
<i>Q. griffithi</i>	3 000 - 12 000 m	Manipur, Nagaland, Mi oram, Meghalaya, Arunachal Pradesh
<i>Q. semicarpifolia</i>	6 000 - 12 000 m	J. & K., U. P., Arunachal Pradesh.

Le ver à soie se nourrit prioritairement sur *Quercus serrata*, *Q. incana* et *Q. semicarpifolia* mais peut survivre sur *Q. dealbata*, *Q. griffithi* et *Q. himalayana* et quelques autres plantes. La qualité de la feuille convient pendant une période spécifique, puis se détériore considérablement entraînant une mortalité larvaire importante. Chimiquement, on constate que les contenus en fibres, en tannins et en minéraux augmentent considérablement en même temps que le contenu en eau décroît lors de la maturation des feuilles de chênes. Le ver à soie ne possédant aucun mécanisme chimique ou mécanique capable de digérer les fibres brutes, c'est un des facteurs responsables du taux élevé de mortalité larvaire.

Puisque la feuille joue un rôle significatif pour la réussite de l'élevage des vers à soie, il est souhaitable d'éviter l'emploi de feuilles matures ou trop matures soit en isolant les pousses précoces des variétés du chêne, soit en manipulant la taille et la défoliation afin d'obtenir un bourgeonnement plus précoce. De plus, on utilisera certaines alimentations artificielles/semi-artificielles améliorées, comme c'est le cas au Japon et dans d'autres pays pour les élevages des vers précoces ; ainsi, l'élevage des larves néonates peut être réalisé sur cette alimentation, puis les larves sont ensuite placées sur des feuilles tendres de bourgeonnement récent afin d'obtenir une meilleure récolte.

ELEVAGE D'ANTHERAEA PROYLEI J

Le ver à soie tassar du chêne vit naturellement en milieu tempéré et les vers à soie sont des proies faciles pour diverses maladies se développant dans des conditions de températures élevées. Plus précisément, trois facteurs ont une importance capitale pour la réussite d'un élevage : la saison d'élevage, l'altitude du site d'élevage et la variété de plante hôte.

Dans la région du nord-est, la récolte de printemps est la principale récolte de graines et de cocons réalisée sur *Q. serrata* à partir de la première/deuxième semaine de mars quand les conditions climatiques sont favorables. Néanmoins, une autre récolte peut être réalisée en été ou en automne en levant la diapause nymphale et en obtenant un feuillage convenable après avoir effectué une taille appropriée des plantes. Dans le nord-ouest, une altitude basse ou moyennement élevée pour l'élevage est favorable pour réaliser un élevage et obtenir des graines et des récoltes commerciales. Les élevages à basse altitude (février/mars) sur *Q. incana* et à une altitude d'élevage élevée (Juin/Juillet) sur *Q. semicarpifolia* sont essentiellement des récoltes de graines alors que l'élevage réalisé en altitude moyenne (avril/mai) sur *Q. incana* est destiné à une récolte de cocons.

a) Technologies d'élevage :

Aujourd'hui, deux types d'élevage sont réalisés avec le tasar du chêne : élevage intérieur complet dans le nord-ouest et élevage en extérieur dans le nord-est.

En élevage extérieur dans des conditions naturelles, les larves néonates sont déposées sur des petites brindilles placées dans des boîtes, des pichets ou des bouteilles. Après la première mue, elles sont transférées sur les buissons de chênes en extérieur. Là, elles vont se développer sous contrôle et protection afin d'éliminer les risques de maladies et les prédateurs. De bonnes conditions d'hygiène sont maintenues sur le site d'élevage. L'utilisation de filets de nylon permet d'obtenir un meilleur rendement d'élevage. De plus, ils limitent les risques d'attaques de parasites et de prédateurs et préservent les vers des risques naturels.

L'élevage complet d'*A. proylei* en intérieur du premier âge jusqu'au filage est pratiqué dans le nord-ouest du fait de l'existence de chênes élevés et de facteurs environnementaux favorables. Les vers nouvellement éclos rampent sur des brindilles placées à même le sol sur de larges feuilles de papier. Au premier âge, une seule prise de nourriture quotidienne est suffisante mais, au cours des stades plus avancés, 2-3 prises de nourriture par jour sont nécessaires pour une croissance normale des larves. Un nettoyage journalier des litières ainsi que de très bonnes conditions d'hygiène sont nécessaires dans les chambres d'élevage.

La larve du ver à soie étant très sensible aux stimulus externes, des précautions devront être prises pour éviter toute manipulation ou dérangement inutiles. Le ver à soie tasar du chêne commence à manger le bord de la feuille puis avance jusqu'à la nervure centrale. En général, il ne mange pas la nervure centrale et les pétioles. En mangeant, la larve maintient la feuille, la nervure centrale ou le pétiole de la feuille à l'aide de ses mandibules et de ses pattes abdominales. La durée moyenne de prise de nourriture en une seule fois est d'environ 30 mn mais ne dépasse pas une heure. Les besoins en feuilles des jeunes larves et des larves adultes sont très différents. En moyenne, une larve au premier stade ne consomme que 0,21 g de feuilles alors que la consommation au dernier stade est de 60,33 g avec un besoin total de 72,83 g par larve.

La larve du ver tasar du chêne se développe bien, à une température comprise entre 20-25°C et peut supporter jusqu'à 30°C, une température supérieure entraînant une mortalité larvaire importante. Les premiers âges ont besoin d'une plus grande humidité (80-90 %) que les âges plus avancés (70-80 %). Les jeunes larves aiment les feuilles juteuses vertes mais les feuilles tendres de couleur vert pâle sont néfastes à leur santé. Les jeunes larves doivent être nourries avec des feuilles tendres et les âges plus avancés avec des feuilles mi-mature. Il faut éviter les feuilles matures.

b) Maladies, parasites et prédateurs :

Le ver à soie *A. proylei* est sujet à trois sortes de maladie :

- viroses,
- bactérioses,
- mycoses.

L'étendue de la perte due à ces maladies au cours des différentes saisons peut atteindre 100 % si des mesures préventives ne sont pas observées. Comme le tasar tropical, *A. proylei* est infesté par plusieurs parasites tel que la mouche tachinide Uzi, la mouche ichunemon, les punaises canthecona et reduviidés, les fourmis et les mantes avec une incidence comparativement plus faible. Néanmoins, la mouche uzi est un dangereux parasite du ver à soie tasar du chêne dans le nord-est et cause plus de 40 % de dommages dans les récoltes.

PROBLEMES

Bien que l'Inde dispose de chêneraies naturelles, sa position géographique et topographique n'offre pas des conditions très favorables pour l'élevage du tasar du chêne. Le développement de l'industrie du tasar du chêne est encore faible bien que certains problèmes de base aient été résolus avec succès. Elle connaît de nombreux problèmes, à savoir : les chênes se développent lentement, la valeur nutritive des feuilles se détériore considérablement à mesure que le feuillage vieillit, un

rendement faible par hectare, une fécondité et une éclosion faibles, des variations imprévisibles des graines et du stock, manque d'un ensemble de pratiques perfectionnées, etc. Comme en Chine, où les zones à vers à soie monovoltins et bivoltins sont séparées et où l'on trouve deux souches d'*A. proylei* adaptées à ces zones, il y a nécessité de délimiter ces zones en Inde étant donné les conditions climatiques et les altitudes. Dans les zones à vers à soie bivoltins, la récolte devrait être une récolte de graines suivie d'une récolte commerciale à grande échelle alors que les zones à vers à soie monovoltins ne devraient concerner que des élevages commerciaux. La séparation des souches monovoltines et bivoltines peut certainement aider à résoudre le problème de la préservation des graines. A court terme, une attention particulière devra être accordée aux points suivants :

1. Sélection et propagation des variétés précoces de chênes.
2. Diminution de la période de croissance des chênes.
3. Amélioration de la qualité de la feuille au cours de la phase de croissance.
4. Développement d'aliment artificiel et semi artificiel pour les premiers âges.
5. Séparation des souches monovoltines et bivoltines d'*A. proylei*.
6. Amélioration qualitative et quantitative des caractères d'*A. proylei*.
7. Amélioration des techniques d'élevage de vers à soie.
8. Amélioration des propriétés technologiques de la soie tassar du chêne.

CONCLUSION

Bien que l'industrie tassar du chêne en Inde se trouve confrontée à de nombreux problèmes, elle possède un potentiel important à développer. Les chêneraies sont abondantes, on ne manque pas de ressources humaines dans la ceinture du tassar du chêne et la fibre de la soie tassar du chêne est comparable à celle du mûrier ou du muga quant à son lustre et sa finesse. Si une approche systématique est faite, cette industrie ne subviendra pas uniquement aux besoins du marché intérieur mais fournira une occupation au secteur défavorisé de la société dans les zones montagneuses les plus éloignées où d'autres possibilités d'emploi sont très faibles.

AN INVESTIGATION ON THE ECONOMIC GROWTH AND DEVELOPMENT OF MULBERRY SILK IN INDIA

S. LAKSHMANAN & V. THIAGARAJAN

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

Sericulture industry in India is one among the encouraging cottage industries. The compound growth rate of area under mulberry in all the successive plans together except the first plan indicates 4.9 per cent and raw silk production during the Fifth, Sixth and Seventh Plans were 11.5 per cent, 10.3 per cent and 9.6 per cent respectively. The Fifth Plan's compound growth rate of productivity ranks top among other plans. The value of R^2 indicates that the area under mulberry was mainly responsible for the growth of the industry.

Keywords : Time series data, compound growth rate, production, productivity, mulberry raw silk, classical linear model, test of significance, co-efficient of determination.

INTRODUCTION

The accepted aim of developmental planning is to maximise the rate of growth of the gross national product (GNP). A predominantly agricultural country like India cannot hope for a healthy economic growth unless sustained and substantial growth is ensured in agricultural and allied sectors. Sericulture is an important labour intensive agro-based cottage industry providing gainful employment to more than 6 million persons. It earned Rs. 2,149 billion of foreign exchange during 1986-87. Since the inception of planning institution in India, the growth and development of this industry is more impressive and in respect of area under mulberry cultivation and raw silk production compared with other agro-based sectors is *par excellence*. The index of the spectacular success of this industry can be had from the figures from 1951-52 to 1987-88. There has been an increase of 246 % with regard to area under mulberry cultivation and an eight fold increase in silk production.

In view of the above facts, an attempt has been made to study the growth pattern of area under mulberry, production of raw silk and productivity under different plan periods in India.

MATERIALS AND METHODS

The time series data on area and production of mulberry silk in India from 1956-57 to 1987-88 were collected from statistical biennial of various issues published by Central Silk Board, Government of India. The compound growth rates of area, production and productivity of mulberry silk were estimated planwise for 28 years from 1956-57 to 1986-87.

By fitting an exponential function to the time series data, the compound growth rates of area, production and productivity of mulberry were obtained. The form of the function can be represented as $Y = ab^t$, which can be written in the log form as :

$$\text{Log } Y = \text{Log } a + t \text{Log } b$$

where $b = r + 1$

The percentage of compound growth rate = $\text{Antilog}(\log b - 1) \times 100$

Further, a classical linear model has been used in the form of :

$$Y = \alpha + \beta X + U$$

where

Y = Dependent Variable (Silk production),
X = Independent Variable (Area under mulberry),
 α, β = Parameters,
U = Disturbance term,

to find out

- the co-efficient of determination (R^2),
- standard errors of regression estimates,
- the test of significance at 1 % and 5 % levels

$$R^2 = \frac{\hat{\beta}^2 (\sum x_i^2)}{\sum y_i^2} ; \quad SE(\hat{\beta}) = \frac{\sum e_i^2}{n-2} \cdot \frac{1}{\sum x_i^2} ; \quad \text{'t' statistic reduces to } \hat{\beta} = \frac{\hat{\beta}}{SE(\hat{\beta})} \text{ \& } \hat{\alpha} = \frac{\hat{\alpha}}{SE(\hat{\alpha})}$$

RESULTS AND DISCUSSION

Compound growth rates of area

The annual compound growth rates of area under mulberry for the Second, Third, Fourth, Fifth, Sixth and Seventh Plan periods were 6.7 per cent, 0.5 per cent, 4.1 per cent, 3.6 per cent, 6.3 per cent

Table I. Compound growth rates (CGR) of area, production and productivity of mulberry under different plan periods in India.

Tableau I. Taux de croissance (CGR) des surfaces, de la production et de la productivité des mûriers au cours des différentes périodes de planification en Inde.

Plan periods <i>Périodes de planification</i>	Area		Production		Productivity	
	CGR (%)	't' value	CGR (%)	't' value	CGR (%)	't' value
	<i>Surface</i>		<i>Production</i>		<i>Productivité</i>	
	<i>CGR (%)</i>	<i>Valeur t</i>	<i>CGR (%)</i>	<i>Valeur t</i>	<i>CGR (%)</i>	<i>Valeur t</i>
I Plan (1951-55)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
II Plan (1956-60)	6.7	21.606**	2.4	52.499**	-3.9	33.493**
III Plan (1961-65)	0.5	238.86**	5.7	24.115**	5.1	26.801**
IV Plan (1969-73)	4.1	33.665**	5.8	19.775**	1.6	31.364**
V Plan (1974-78)	3.6	37.245**	11.5	11.931**	7.8	17.727**
VI Plan (1980-84)	6.3	23.301**	10.3	13.279**	3.6	26.546**
VII Plan (1985-87) @	4.5	39.606**	9.6	18.785**	5.0	35.335**
From / de 1956-57						
To / à 1986-87	4.9	12.418**	8.4	7.423**	3.2	18.709**

NA : Not available / *Données non disponibles.*

** Significant at 1% / *Significatif à 1%.*

@ The data were available up to 1985-87 for VII Plan / *Les données sont disponibles jusqu'au 7e plan (1985-87).*

and 4.5 per cent respectively. Except two transitional periods, the compound growth rates of all plan periods together observed as 4.9 per cent. The Second and Sixth Plans contributed major growth rates. On the other hand, the growth rate was not satisfactory during Third Plan period. It can be seen from Table I that the 't' test shows high significant values for all the plans.

Compound growth rates of raw silk production

The compound growth rates of mulberry raw silk productions during the Fifth and Sixth Plans contributed major source to the development of this industry. It can be observed from Table I that the Fifth, Sixth and Seventh Plans silk production shows a better performance over the other plans. The reason is that raw silk production was found, four, seven and nine fold increases during the plan periods since 1950-51 and a corresponding increase was also noticed in area under mulberry cultivation. The compound growth rate was 8.4 per cent for the whole plan periods put together. The 't' value obtained for all the plan periods are highly significant.

Table II. Trends in growth rates of production of raw silk planwise in India. Classical linear function.

Tableau II. Tendances des taux de croissance de la production de soie grège au cours des différents plans en Inde. Fonction linéaire classique.

Plan	α	β	R^2
I	NA	NA	NA
II	0.0028 (2 2200)	1.7551 (0.8609)	0.89
III	-0.2492 (47.8584)	3.2261* (4.8433)	0.83
IV	-1.036 (4.5638)	2.7786* (2.7132)	0.86
V	-2.3799 (2.5608)	11.5103** (0.6095)	0.98
VI	-0.9489 (3.4414)	3.8569* (1.1648)	0.83
VII	-0.3296 (4.8975)	2.9736* (1.3853)	0.57

NOTE : Figures in parentheses are the S.E.S. / Les chiffres entre parenthèses correspondent au S.E.S.

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

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

Table III. Planwise area under mulberry production of raw silk and productivity.

Tableau III. Répartition par plan des surfaces de mûriers, de la production de soie grège de mûrier et de la productivité.

Period <i>Période</i>	Area under mulberry (ha) <i>Surface de mûriers (ha)</i>	Raw silk production (mt) <i>Production de soie grège (mt)</i>	Productivity (mt) <i>Productivité (mt)</i>
I Plan	NA	NA	NA
II Plan			
1956	62,136	1,036	0.0167
1957	71,664	1,113	0.0155
1958	74,206	1,140	0.0154
1959	76,492	1,141	0.0149
1960	82,954	1,154	0.0139
III Plan			
1961	84,247	1,264	0.0150
1962	85,433	1,401	0.0164
1963	85,644	1,423	0.0166
1964	86,209	1,466	0.0170
1965	86,191	1,634	0.0189
IV Plan			
1969	91,621	1,758	0.0192
1970	98,248	2,258	0.0229
1971	1,04,885	2,143	0.0204
1972	1,04,092	2,119	0.0203
1973	1,08,962	2,411	0.0221
V Plan			
1974	1,20,799	2,434	0.0201
1975	1,24,913	2,541	0.0203
1976	1,25,046	2,686	0.0215
1977	1,31,094	3,186	0.0243
1978	1,40,633	3,752	0.0267
VI Plan			
1980	1,70,000	4,593	0.0270
1981	1,79,949	4,801	0.0267
1982	1,96,848	5,214	0.0265
1983	2,06,913	5,681	0.0274
1984	2,14,838	6,895	0.0321
VII Plan			
1985	2,17,839	7,029	0.0323
1986	2,29,609	7,897	0.0344
1987	2,37,700	8,455	0.0356

Compound growth rates of productivity

It can be worthwhile to point out here that the Fifth Plan's compound growth rate ranks first (7.8 %), which pushes up the industry towards upward position. On the contrary, a negative growth rate (- 3.9 %) was observed during the Second Plan period. The negative growth was attributed to successive years of low level of yield performance. This can be viewed from Table III. A moderate growth rate was investigated for all the plan periods put together. In all the plan periods the 't' value was found highly significant.

Trends in growth rates of silk production

The growth rate trend of mulberry raw silk production can be seen from Table II. A single factor (X), namely area under mulberry, is highly responsible for the growth and development of this industry. This could be visualised from the value of R^2 of different plan periods. Further, the values of β for different plan periods were significant except the second plan period.

CONCLUSION

The results of the above study indicate an overall significant trend in area, production and productivity of mulberry in different plan periods. Further, the plan as a whole has increased significantly with respect to area, production and productivity. Since the variation in mulberry raw silk was mainly due to variations in areas under different plans. The growth of productivity was not so encouraging except for the Fifth Plan period. Hence, for increasing production and productivity of raw silk measures such as strengthening production factors, providing credit facilities, adopting farmers and diffusion of technology appropriate for different agro-climatic conditions are to be undertaken.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Shri K. V. Benchamin, Deputy Director of Silkworm Physiology Laboratory (Central Sericultural Research and training Institute, Mysore) for his valuable comments. The authors are also thankful to Shri S. Sekar for having arranged to get the manuscript typed.

REFERENCES

- ALLEN R.G.D. (1972), Mathematical analysis for economists (Chapter IX - Exponential and Logarithmic Functions). The University Press, Glasgow.
JOHNSTON J.(1972), Econometric Methods, 2nd Edition, International Student Edition, McGraw-Hill International Book Company.
SILK IN INDIA (1986), Statistical Biennial, Central Silk Board, Bangalore, India.

RECHERCHE SUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT ECONOMIQUE DE LA SOIE MURIER EN INDE

S. LAKSHMANAN & V. THIAGARAJAN

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

L'industrie séricicole en Inde fait partie des industries agricoles les plus encourageantes. Le taux de croissance de la surface plantée en mûriers pour tous les plans consécutifs, excepté le premier, est de 4,9 % et pour la production de soie grège au cours des 5ème, 6ème et 7ème plan a été respectivement de 11,5 %, 10,3 % et 9,6 %. Le taux de croissance de la productivité le plus élevé a été obtenu au cours du 5ème plan. La valeur de R^2 indique que la croissance de cette industrie est liée à la surface de mûrier.

INTRODUCTION

L'objectif du plan de développement est d'optimiser le taux de croissance du produit national brut (PNB). Un pays comme l'Inde, où l'agriculture est prédominante, ne peut envisager une croissance économique saine sans que cette croissance substantielle et soutenue soit assurée en agriculture et dans les secteurs voisins. La sériciculture est une activité importante basée sur l'artisanat qui offre des emplois à plus de six millions de personnes. Elle a rapportée 2,14 milliards de roupies en devises en 1986-87. L'institution de la planification en Inde a permis de mettre en évidence la croissance et le développement de cette industrie et, plus particulièrement, pour les mûraies et la production de soie grège par rapport à d'autres secteurs. Le succès spectaculaire de cette industrie peut être observé d'après les données de 1951-52 à 1987-88. On constate que la surface de mûrier cultivée a augmenté de 246 % et que la production de soie a été multipliée par 8.

Sur la base de ces données, une étude a été réalisée afin d'analyser la croissance des surfaces plantées en mûrier, la production de soie grège et la productivité au cours des différents plans en Inde.

MATERIELS ET METHODES

Les données chronologiques sur la surface occupée et la production de soie mûrier en Inde de 1956-57 à 1987-88 ont été recueillies dans les statistiques biennales de divers ouvrages publiés par le Central Silk Board, Gouvernement indien. Les taux de croissance des surfaces de la production et de la productivité de la soie mûrier ont été estimés en fonction de la planification pendant 28 années, de 1956-57 à 1986-87.

En établissant un modèle exponentiel aux données chronologiques, on obtient le taux de croissance des surfaces de la production et de la productivité du mûrier. La forme de la fonction peut être représentée ainsi : $Y = ab^t$ et peut être écrite sous la forme logarithmique :

$$\text{Log } Y = \text{Log } a + t \text{ Log } b$$

où $b = r + 1$

Le pourcentage du taux de croissance composé = $\text{anti-log} (\log b - 1) \times 100$

Puis, un modèle linéaire classique a été utilisé sous la forme :

$$Y = \alpha + \beta X + U$$

où :

Y = Variable dépendante (production de soie),
X = variable indépendante (surfaces des mûraies),
 α, β = paramètres,
U = perturbation,

afin de trouver :

- coefficient de détermination (R^2),
- écarts types des valeurs estimées de la régression et
- test de signification aux seuils de 1 % et 5 %

$$R^2 = \frac{\hat{\beta}^2 (\Sigma x_i^2)}{\Sigma y_i^2} ; \text{ Ecart type } (\hat{\beta}) = \frac{\Sigma e_i^2}{n-2} \cdot \frac{1}{\Sigma x_i^2} ; \text{ "t" statistique réduit à } \hat{t} = \frac{\hat{\beta}}{SE(\hat{\beta})} \& \frac{\hat{\alpha}}{SE(\hat{\alpha})}$$

RESULTATS ET DISCUSSION

Taux de croissance des surfaces de mûrier :

Le taux de croissance annuel des surfaces plantées en mûriers pour les 2ème, 3ème, 4ème, 5ème, 6ème et 7ème périodes de planification est de 6.7 %, 0.5 %, 4.1 %, 3.6 %, 6.3 % et 4.5 % respectivement. Excepté deux périodes de transition, le taux de croissance composé de toutes les périodes de planification réunies observées est de 4.9 %. Le 2ème et 6ème plan ont un taux de croissance supérieur. D'autre part, le taux de croissance s'est avéré insatisfaisant au cours de la 3ème période de planification. On constate dans le tableau I que le test "t" montre des valeurs significatives élevées entre tous les plans.

Taux de croissance de la production de soie grège :

Les taux de croissance des productions de soie grège mûrier au cours des 5ème et 6ème périodes de planification sont ceux qui ont le plus contribué au développement de cette industrie. On constate dans le tableau I que la production de soie pendant les 5ème, 6ème et 7ème plans est plus performant par rapport aux autres plans. Ceci s'explique par le fait que la production de soie grège a été multipliée par 4, 7 et 9 au cours des périodes de planification depuis 1950-51, ce qui correspond à une augmentation similaire des surfaces de mûriers. Le taux de croissance est de 8,4 % pour toutes les périodes de planification réunies. Les valeurs de "t" obtenues indiquent que tous les plans sont significativement différents entre eux.

Taux de croissance de la productivité :

Il est nécessaire de souligner ici que le taux de croissance de la 5ème période de planification arrive en tête (7,8 %) et met l'industrie séricicole en première position. On constate à l'inverse, un taux de croissance négatif (- 3,9 %) au cours du 2ème plan. Ce taux négatif est dû aux différentes années à faible rendement. Ceci peut être observé dans le tableau III. Un taux de croissance moyen est obtenu en réunissant toutes les périodes de planification. Pour toutes les périodes de planification, la valeur "t" est très significative.

Tendance des taux de croissance de la production de soie grège :

La tendance du taux de croissance de la production de soie grège mûrier peut être observée dans le tableau II. Un facteur unique (X), dénommé surface de mûriers, est responsable de la croissance et du développement de cette industrie. Ceci peut être observé d'après la valeur de R^2 dans les différentes

périodes de planification. De plus, la valeur de B au cours des différents plans est significativement différente, excepté pour le second plan.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent une tendance globale significative pour les surfaces de la production et de la productivité de mûriers au cours des différentes périodes de planification. De plus, le plan globalement a augmenté considérablement la surface, la production et la productivité des mûriers. Les variations en soie grège mûrier sont dues en particulier aux variations des surfaces au cours des différentes périodes de planification. La croissance de la productivité n'a pas été aussi encourageante sauf au cours de la 5ème période de planification. Dès lors, des mesures doivent être prises afin d'augmenter la production et la productivité de la soie grège, telles que le renforcement des facteurs de production, les facilités de paiement, l'emploi de fermiers et la diffusion des technologies appropriées en fonction des différentes conditions agro-climatiques.

REARING OF THE OAK TASAR SILKWORM, *ANTHRAEA PROYLEI*, IN RELATION TO ALTITUDE AND CLIMATE

K. CHAOBA SINGH*, B.L. TIKOO* & T.K. SINGH**

* Regional Tasar Research Station, Chingmeirong, Mantripukhri, Imphal - 795 002, Manipur, India.

** Entomology Research Unit, Life Sciences Department, Manipur University, Canchipur, Imphal - 795 003, Manipur, India.

*The efficiency of the success of the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, rearing depends on choosing suitable locations and then on allocating to each location the right season most likely to succeed in the area selected for rearing. These considerations are particularly important in Manipur, a State in the north-eastern part of India where a huge amount of oak host plants is naturally existing in isolated areas and foothills. Therefore, when deciding to rear silkworms, it should be ensured that the locality is suitable with respect to altitudinal strata and elements of agro-climate.*

Keywords : Oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, rearing, geographical zones, altitude, climate.

INTRODUCTION

It is well known that the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, is an insect which prefers a temperate type of climate. The culture of this silkworm has been practised in India since the nineteen seventies in the Sub-himalayan belt where huge naturally existing oak plantations are available. Manipur, a State in the north-eastern part of India, enjoys an enviable position as the largest producer of oak tasar in India. The propagation in respect to number and density is dependent on the diversity of host plants. On the other hand, physiography and agro-climatic conditions may also contribute to the success of oak tasar silkworm rearing.

In the above context, it has been desirable to give a stress on some important biological traits of *Antheraea proylei* in the study area in respect to altitudinal zones of the sericultural areas, and environment along with the elements of climate leading to seasonal abundance. As a result, the altitude of the State is extremely variable, ranging between 200 to 2,994 m above MSL in providing information to rearers. The average annual rainfall, maximum and minimum temperatures likewise, varies in different parts of the State. However, in a generalised way it may be stated that the average annual rainfall is approximately 175 cm ; whereas the average minimum and maximum temperatures are about 0.5°C and 32.5°C respectively. Generally, three distinct seasons, viz. winter, spring and monsoon with a less distinct season of autumn or retreating monsoon, are recognisable, and sub-tropical to temperate types of climate prevail in the State depending upon elevations.

The altitudinal distribution and seasonal fluctuations of *A. proylei* rearing in India has not been dealt with by any author in respect of the State of Manipur, nor in north-eastern India. The authors have found out the relative abundance of *A. proylei* in strata extending from 300 to 2,400 m above MSL. Apart from this, there is no other reference known to the authors in this respect and the present study was initiated in 1985.

MATERIALS AND METHODS

The study area consisted of the State of Manipur (Fig. 1) which has an area of 22,356 sq. km of hills and valleys and lies between 23°50' and 25°41' N latitude and 93°2' and 94°47' E longitude. It is situated in the far-flung north-eastern corner of India. The confines of the State touch Nagaland on the north, the Chin hills and Burma on the east, Mizoram on the south and on the west it borders on Cachar and the north Cachar hill district of Assam.

Climatic and geographical data (rainfall, maximum and minimum temperatures, relative humidity and elevation) are collected from 72 localities distributed in 8 districts of the State (Fig. 2), including 2 localities under the control of the Central Silk Board. As a consequence, the surface area of the State has been divided into several horizontal strata, viz. 300-600 m, 601-1,200 m, 1,201-1,800 m and 1,801-2,400 m above MSL. Three seasons have distinctly been recognised, namely spring (March to April), monsoon (May to September) and winter (October to February) although in some places a short spell of autumn (October to November) can also be recognised as a retreating season of monsoon. The severity of these seasons varies through different months, e.g. rainfall and heat attain peak in June to July, winter in December to January and spring in April.

The rearing was conducted at four selected places so that each of them representing the horizontal strata of one zone. As such, *A. proylei* can be reared in two or three different seasons of a year (Fig. 4) out of the layings obtained from natural emergence or through an induced process of light treatment.

RESULTS AND DISCUSSION

The State has naturally grown oak food plants in abundance throughout its length and breadth. However, the areas of oak in the State based on ocular estimates are approximately 100 000 hectares, one third of which has been identified and exploited to produce the valuable raw material by way of oak tasar silk.

Altitudinal zones :

Based on the varying elevations, the landform of the state has been divided into 4 altitudinal zones/strata and the district wise distribution of 72 oak tasar rearing localities at different altitudinal zones are given in Table I.

Zone no. 1 :

It is represented by only two localities of the Tamenlong district situated between 300 and 600 m above MSL. It covers below 5 % of the total oak plantation areas. A tropical monsoon type of climate prevails in these localities and hence, heavy rainfall and excessive heat (Fig. 3a). It is dominated by deciduous forests areas.

Zone no. 2 :

It covers more than 70 % of the exploited oak forests of the dry temperate climate zone. The landscape in and around the Manipur valley, particularly the isolated foothills of all the eight districts of the State, forms this zone. They flourished at heights between 601 and 1,200 m above MSL. A hotter climate and moderate rainfall prevail in the localities of this division (Fig. 3b) ; and being close to the most populous part of the State, extensive exploitation has been done in this zone.

Zone no. 3 :

This zone has got a more relatively abundant oak flora covering nearly 20 % of the total oak areas, where the hill tracts of 1,201 to 1,800 m above MSL height have a cooler climate with moderate rainfall (Fig. 3c). These places are found in the north-eastern hilly tracts of the State extending from Senapati and Ukhrul districts towards Chandel district but they are mostly inaccessible and are liable to forest fires.

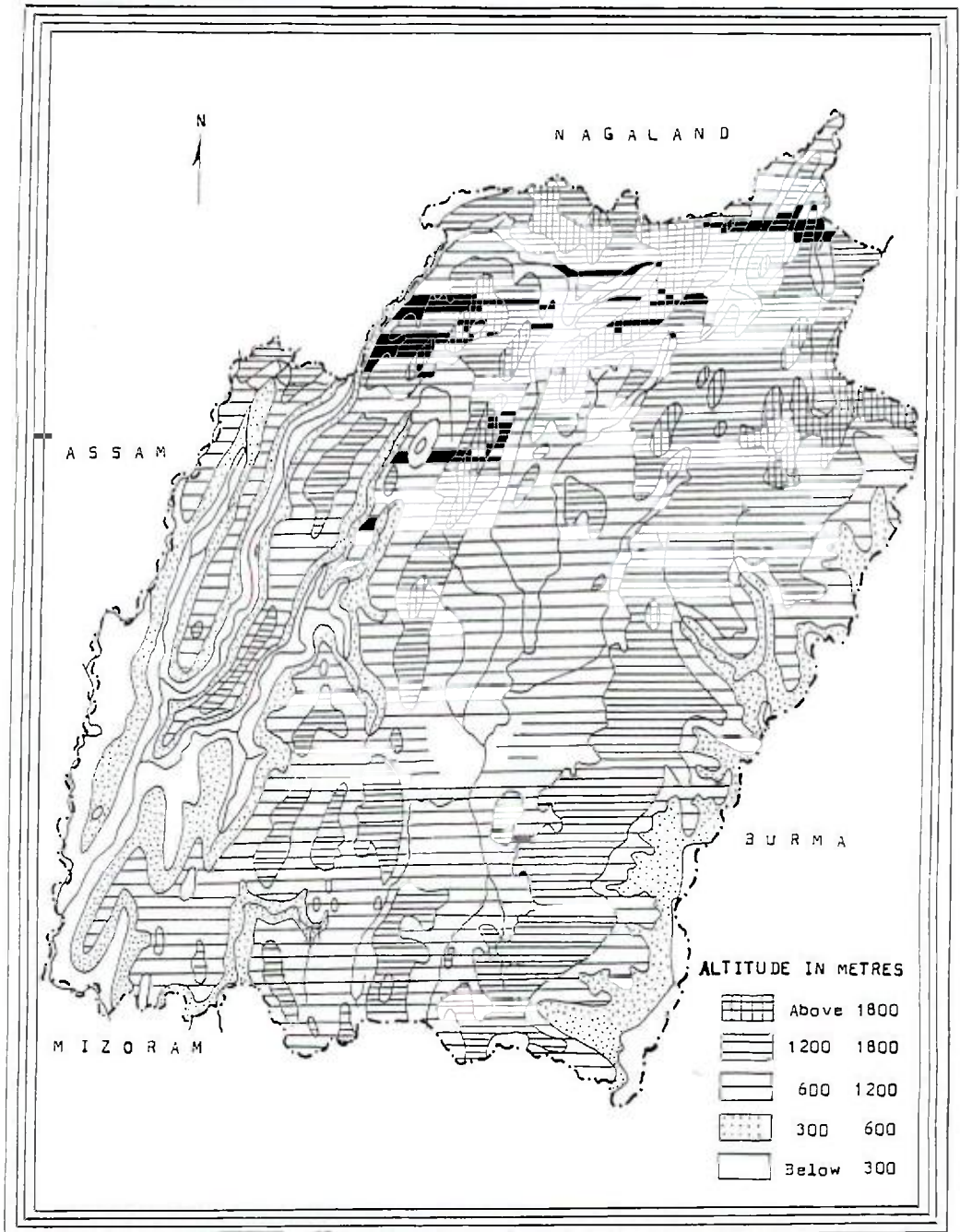


Fig. 1 : Map of Manipur illustrating the physiography and horizontal stratification of the surface area.

Fig. 1 : Carte de l'Etat de Manipur montrant la physiographie et la stratification horizontale de la région étudiée.

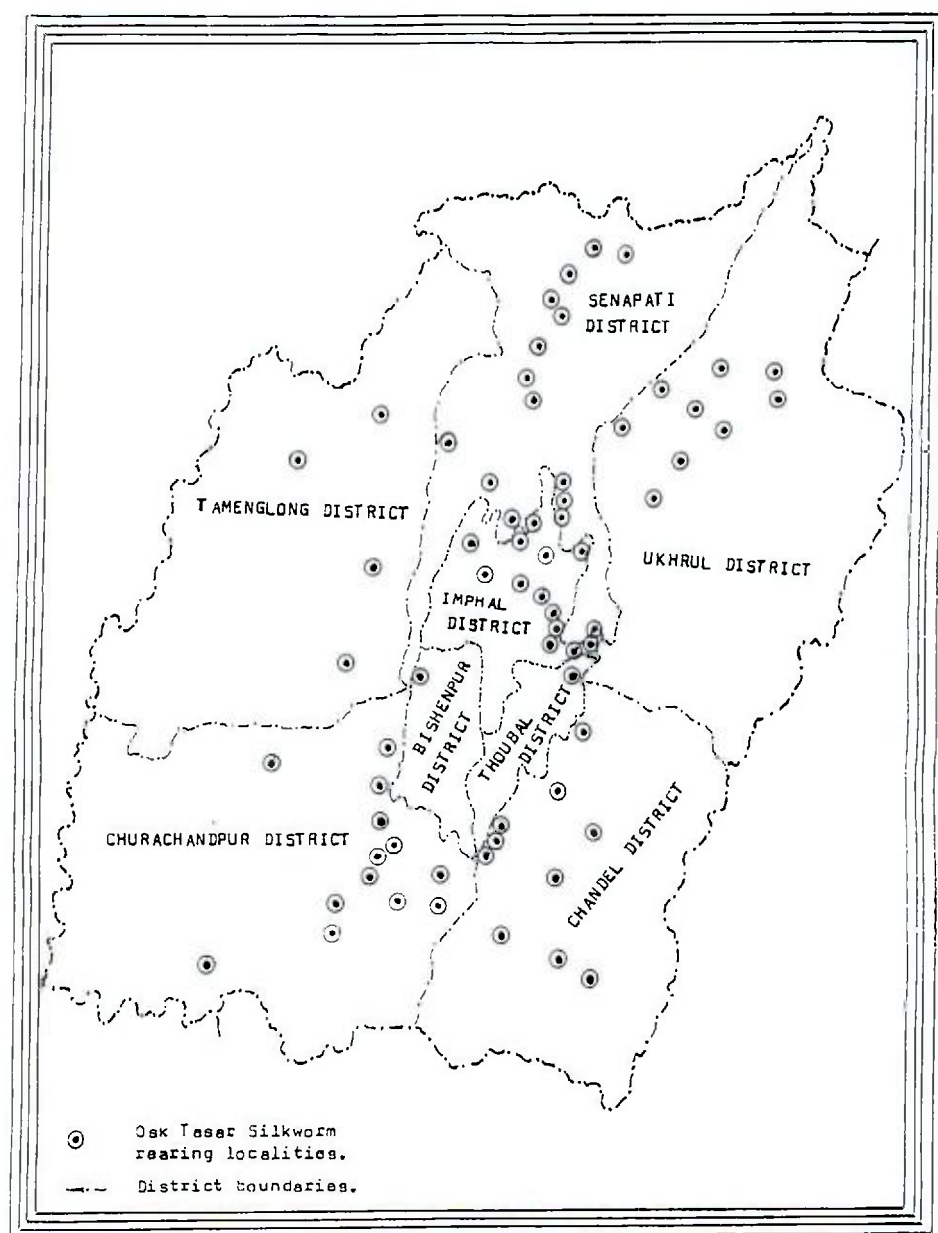


Fig. 2 : Map of Manipur illustrating the different districts and district-wise distribution of oak tassar silkworm rearing localities.

Fig. 2 : Carte de l'Etat de Manipur montrant les différents districts et la répartition par district des centres d'élevage du ver à soie tassar du chêne.

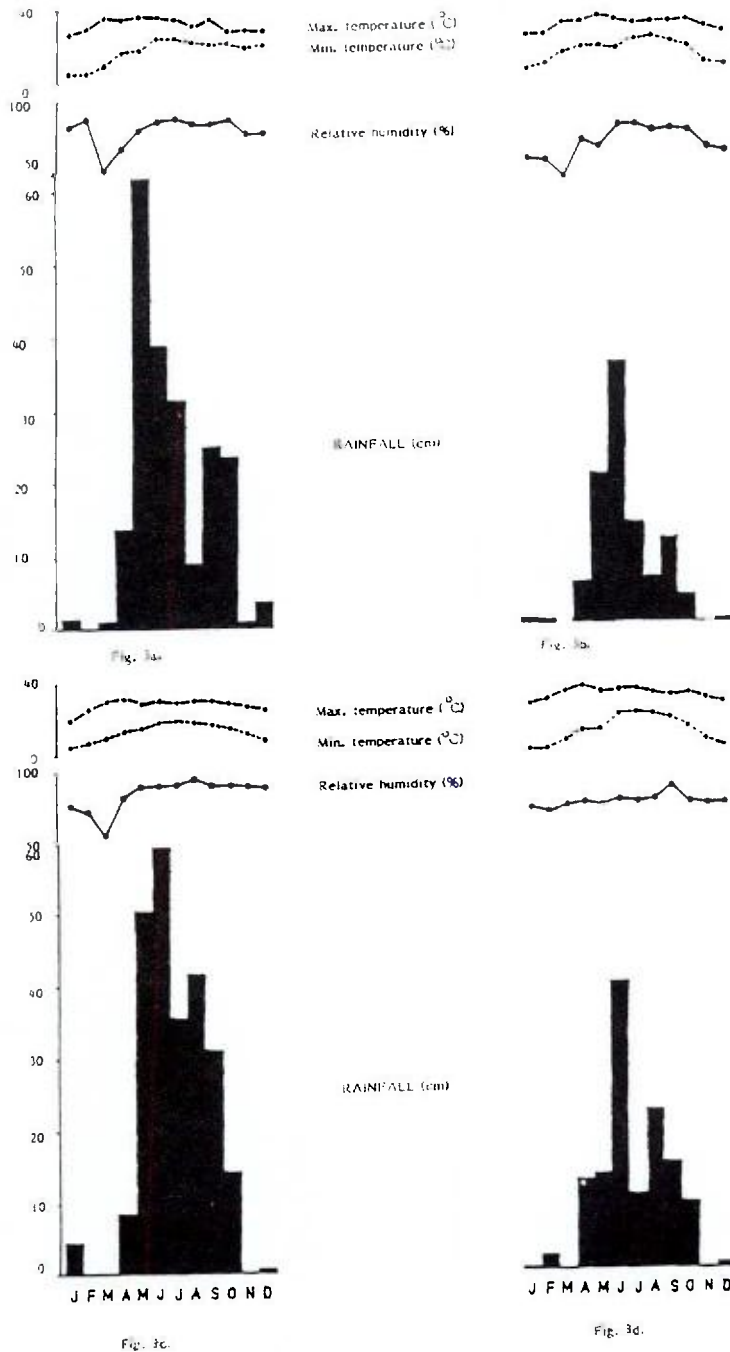


Fig. 3. : Climatic features of the four altitudinal zones.
Fig. 3 : Caractéristiques climatiques des quatre zones d'altitude.

Table I. District wise rearing localities at different altitudinal zones in Manipur.

Tableau I. Centres d'élevage répartis par district et en fonction des zones d'altitude dans l'Etat de Manipur.

Sl. no. N° de série	District	Total number of rearing localities in the district Nombre total de centres d'élevage par district	No. of rearing localities in different zones Nombre de centres d'élevage en fonction de l'altitude			
			300-600 m	601-1,200 m	1,201-1,800 m	1,801-2,400 m
1	Imphal	11 + (1)	-	12	-	-
2	Tamenglong	5	2	3	-	-
3	Bishenpur	1	-	1	-	-
4	Churachandpur	19	-	19	-	-
5	Senapati	12 + (1)	-	5	6	2
6	Chandel	11	-	8	3	-
7	Thoubal	1	-	1	-	-
8	Ukhrul	10	-	3	4	3
	Total	72	2	52	13	5

(Figures in parentheses indicate the centres under the supervision of Central Silk Board).

(Les chiffres entre parenthèses indiquent les centres sous tutelle du Central Silk Board).

Zone no. 4 :

A negligible land area (about 5 %) of Ukhrul and Senapati districts of the State has been encountered under this zone of altitudinal strata ranging between 1,801 to 2,400 m above MSL. It is mostly unexploited and left out due to inconveniences for free movement. A dry and coldest climate prevails in this zone (Fig. 3d).

Seasonal patterns of weather :

Seasonal factors have resulted in differences in the floral diversity and faunal distribution in the different parts of the State. Consequent upon this fact, Manipur exhibits a distinct seasonal rhythm in her climatic pattern. Generally, the State experiences three main seasons, viz. winter (December to February), spring (March to April) and monsoon (May to September) with a short spell of autumn or retreating monsoon (October to November) (Fig. 4). The beginning of winter is marked by a steep fall in temperature to almost 5°C during the first week of December and becomes very dry. January is normally the coldest month, in which the mean daily maximum temperatures remain well below 22°C and mean daily minimum temperatures in association with the cold wave drop to a degree or two below the freezing point. In February temperatures start rising gradually. Fogs are very common and rainfall is the lowest during this season. The commencement of spring season in early March is marked by a sudden increase in temperature, vanishing fog and occasional rains accompanied by strong wind and thunder showers. While the mornings are cool and pleasant, the afternoons are generally hot and cloudy. But the frequency of rains increases with the advance of this season. The beginning of the longest monsoon spreading over five months from May to September heralds during

- Normal rearing
- ▨ Induced rearing
- Hibernation/Diapause
- ▣ Natural emergence

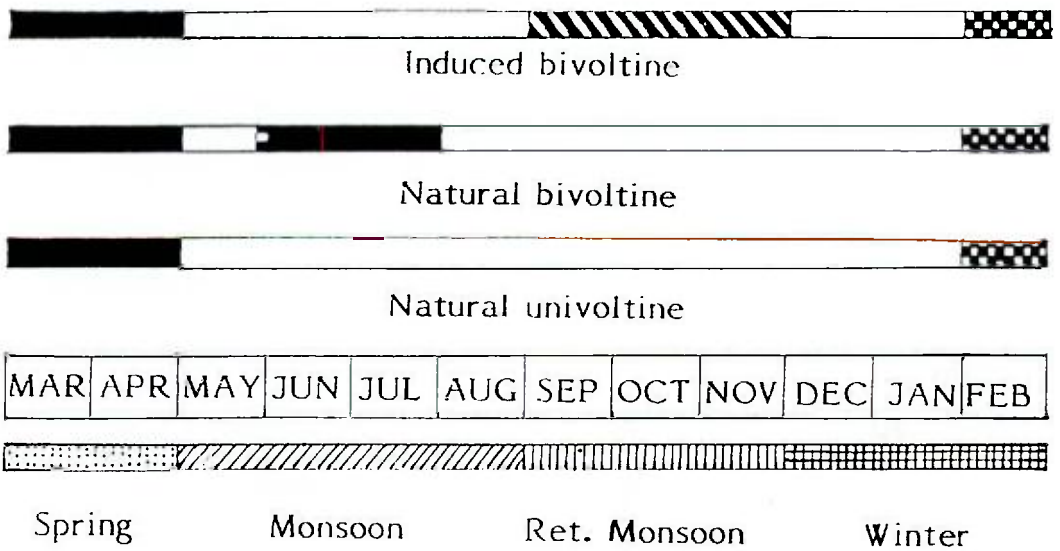


Fig. 4 : Varying months of the rearing season of *A. proylei* in a calendar year.

Fig. 4 : Divers mois de la saison d'élevage d'*Antheraea proylei* sur une année.

early May. However, the monsoon rain is more intense and heavier in June and July months, and comparatively moderate during August and September. The maximum mean temperature rises attaining its peak during July and rainfall in June. While very high atmospheric humidity and widespread clouds are experienced in the State. Then by the end of September, the south-west wind becomes feeble and retreats monsoon in the following two months, viz. October and November, representing a short spell autumn. The rains gradually decrease, temperatures falling down and the sky becomes clear, while the weather remains fine and pleasant.

Seasonal history of *A. proylei* :

The rearing of *A. proylei* prevails during March to December in the present study area, but the frequency of success in the rearing shows remarkable variation in different months of the year. The greatest success has been observed in spring (March to April) rearing and details of rearing are presented in Table II and then it declines during monsoon (Table III) onwards till late monsoon (Table IV) and winter. The temperature and relative humidity during spring is congenial throughout the State and hence, rearing is very easy and cocoon production is good. Monthly fluctuation does not follow a definite pattern during monsoon. While the mean maximum temperatures and relative humidity attain their peaks with steep fluctuations. As such, the monsoon rearing is usually unstable and unpredictable.

The more or less successful monsoon (the so-called summer crop) and late monsoon (or autumn crop) rearings in the higher strata, i.e. above 1,200 m above MSL, indicate that *A. proylei* seems to be very much seasonal since they have been found only during June to July and September to November. It further suggests that oak tasar silkworms prefer to live in high altitude areas during monsoon. Again an additional testimony towards its preference for living in higher strata during monsoon is that, in this season, places in higher altitudes become congenial as the temperature is comparatively cooler than in places in lower altitudes.

Table II. Rearing details of spring (March to April) crop in different altitudinal strata.

Tableau II. Données de la récolte de printemps (mars à avril) en fonction des couches altitudinales.

Zone	No. of disease-free layings (DFLs) reared	No. of cocoons harvested	Dfl/Cocoon ratio
Zone	Nombre de pontes saines élevées	Nombre de cocons récoltés	Rapport pontes saines/cocons
Zone no. 1	1,730	32,090	1 : 19
Zone no. 2	1,841	55,000	1 : 30
Zone no. 3	1,685	77,800	1 : 47
Zone no. 4	1,008	39,912	1 : 39

Hence, it may be stated that there is one more prominent and one or two less prominent rearing peaks of *A. proylei*, namely March-April (spring), June-July (monsoon) and September-November (late monsoon or autumn) in a year (Fig. 4).

Table III. Rearing details of monsoon (June to July) crop in different altitudinal strata.

Tableau III. Données sur la récolte de mousson (juin à juillet) en fonction des couches altitudinales.

Zone	No. of disease-free layings (DFLs) reared	No. of cocoons harvested	Dfl/Cocoon ratio
Zone	Nombre de pontes saines élevées	Nombre de cocons récoltés	Rapport pontes saines/cocons
Zone no. 1	2,106	13,565	1 : 9
Zone no. 2	1,000	Nil	-
Zone no. 3	1,500	27,800	1 : 18
Zone no. 4	1,000	14,000	1 : 14

Table IV. Rearing details of late monsoon (September to November) crop in different altitudinal strata.

Tableau IV. Données sur la récolte de fin de mousson (septembre à novembre) en fonction des couches altitudinales.

Zone	No. of disease-free layings (DFLs) reared	No. of cocoons harvested	Dfl/Cocoon ratio
Zone	Nombre de pontes saines élevées	Nombre de cocons récoltés	Rapport pontes saines/cocons
Zone no. 1	1,598	9,000	1 : 6
Zone no. 2	1,460	11,134	1 : 8
Zone no. 3	1,000	27,800	1 : 27
Zone no. 4	1,072	25,000	1 : 24

However, Hua-Sin (1987) indicated that the geographical location of the successful oak tasar region in North Eastern China located somewhere 45° N latitude or over an altitude of 500 m above MSL and centred in Liaodong Peninsula and never been beyond this limit. It appears to be bivoltine in this geographical zone where the climatic conditions are relatively severe (natural temperature averaged at 14.1°C in May and 15°C in September respectively) as compared with that of its main natural abode, Liaoning and Shandong Provinces, of around 40° N latitude where it is of a completely temperate nature. It is also reported that even within this zone rearing was found to be rather difficult

as the insect cannot complete its second generation. This condition is in conformity with the prevailing conditions of Manipur.

CONCLUSION

The present study deals with the possibility of *A. proylei* rearing in relation to altitude and climate in the hill-girt districts of Manipur in India stretching within 23-25°41' N latitude. For the purpose of study, 72 localities situated in altitudes varying between 300 to 2,400 m above MSL were considered as source of observations.

It has revealed that during spring *A. proylei* prefers almost all the localities lying in altitudes ranging from 300 to 2,400 m above MSL. However, it appears that the localities situated between 1,201 and 1,400 m above MSL afford more congenial conditions for monsoon rearings of oak tasar silkworms.

As far as the seasonal patterns of weather and seasonal abundance are concerned, it is generally contended that *A. proylei* prefers semitemperate to temperate climate for better thriving. Its appropriate cooler climate is available in the middle and higher altitude areas of the State. The present investigation thus reveals that *A. proylei* has firmly established itself in the topography and agro-climatic conditions of Manipur. The scope of feasibility of oak tasar culture in the State has, therefore, been proved through the present investigation ; and hence, it can be drawn that the successful exploration of oak tasar culture is an ideal strategy for improving the economy of Manipur by providing cash returns to the rearers who nurture the cocoons.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Dr K. SENGUPTA, Director of the Central Tasar Research & Training Institute (Ranchi), for providing the necessary materials and facilities.

REFERENCE

HUA-SIN L. (1987), Development of oak silkworm (*Antheraea pernyi*) cultivation in the chilly areas of North East China. *Sericologia*, 27(3), 555-557.

ELEVAGE DU VER A SOIE TASAR DU CHENE *ANTHERAEA PROYLEI* EN FONCTION DE L'ALTITUDE ET DU CLIMAT

K. CHAOBA SINGH*, B.L. TIKOO* & T.K. SINGH**

* Regional Tassar Research Station, Chinmeirong, Mantripukhri, Imphal - 795 002, Manipur, Inde.

** Entomology Research Unit, Life Sciences Department, Manipur University, Canchipur, Imphal - 795 003, Manipur, Inde.

*La réussite de l'élevage du ver à soie tassar *Antheraea proylei* est liée à la sélection de régions adaptées à l'élevage, ensuite au choix des saisons susceptibles d'optimiser l'élevage en fonction des régions sélectionnées. Ces considérations sont particulièrement importantes dans le Manipur, un Etat du nord-est de l'Inde où les plantations naturelles de chênes hôtes existent en grandes quantités dans les régions isolées et au pied des montagnes. Ainsi, lorsque l'on décide d'élever des vers à soie, on doit s'assurer que l'endroit est propice en ce qui concerne l'altitude et les facteurs agro-climatiques.*

INTRODUCTION

On sait que le ver à soie tassar *Antheraea proylei* est un insecte qui préfère les climats de type tempéré. L'élevage de ce ver à soie est pratiqué en Inde depuis les années 1970 dans la ceinture sub-himalayenne où l'on trouve de grandes quantités de chêneraies naturelles. Manipur, un Etat du nord-est de l'Inde, bénéficie de la position enviable de plus grand producteur de tassar du chêne en Inde. La propagation de cet insecte en nombre et en densité dépend de la diversité des plantes hôtes. En outre, la physiographie et les facteurs agro-climatiques contribuent au succès de l'élevage du ver à soie tassar du chêne.

Dans ce contexte, il est souhaitable de mettre l'accent sur d'importants traits biologiques d'*Antheraea proylei* dans la région étudiée en fonction de l'altitude des différentes zones séricicoles et de l'environnement ainsi que des facteurs climatiques qui favorisent l'abondance saisonnière. De fait, l'altitude de l'Etat de Manipur est très variable : entre 200 et 2 994 m au-dessus du niveau de la mer. La pluviométrie annuelle moyenne ainsi que les températures minimales et maximales varient d'une région à l'autre de l'Etat. Cependant, en règle générale, on peut dire que la pluviométrie moyenne est de 175 cm environ ; alors que les températures minimales et maximales sont d'environ 0,5°C et de 32,5°C respectivement. Généralement, on identifie trois saisons distinctes : l'hiver, le printemps et la mousson et une saison moins marquée : l'automne ou fin de mousson. Le climat de l'Etat de Manipur varie, suivant l'altitude, du type sub-tropical au type tempéré.

La distribution en altitude et les fluctuations saisonnières de l'élevage d'*A. proylei* dans l'Etat de Manipur ou dans le nord-est de l'Inde n'a pas encore été traitée. Les auteurs ont noté une abondance relative d'*A. proylei* à des altitudes de 300 à 2 400 m au-dessus du niveau de la mer. Les auteurs n'ayant connaissance d'aucune autre référence à ce sujet, ont entrepris la présente étude en 1985.

MATERIELS ET METHODES

La région étudiée est l'Etat de Manipur (Fig. 1) d'une surface de 22 356 km² formée de collines et de vallées et située entre 23°50' et 25°41' de latitude Nord et 93°2' et 94°47' de longitude Est. Il se trouve à l'extrême nord-est de l'Inde. Les frontières de l'Etat sont contiguës au Nagaland au nord,

aux collines de Chin et à Burma à l'est, à Mizoram au sud et à l'ouest elles touchent le Cachar et le district montagneux du Nord Cachar de l'Etat d'Assam.

Les données climatiques et géographiques (pluviométrie, températures minimales et maximales, humidité relative et altitude) sont recueillies pour 72 localités réparties sur 8 districts de l'Etat (Fig. 2), dont deux localités sous la supervision du Central Silk Board. La surface de l'Etat a donc été divisée en plusieurs couches horizontales : de 300 à 600 m, de 601 à 1 200 m, de 1 201 à 1 800 m et de 1 801 à 2 400 m au-dessus du niveau de la mer. On reconnaît trois saisons distinctes : le printemps (mars à avril), la mousson (mai à septembre) et l'hiver (octobre à février), bien qu'on note par endroits de brèves périodes d'automne qu'on identifie comme la fin de la mousson. La rigueur des saisons varie au cours des mois, par exemple les précipitations et la chaleur sont maximales de juillet à juin, en hiver de décembre à janvier et au printemps en avril.

On effectue l'élevage dans quatre endroits sélectionnés, chacun d'eux représentant la couche altitudinale d'une zone. Ainsi, *A. proylei* peut être élevé au cours de deux ou trois saisons sur une année (Fig. 4) à partir des pontes obtenues par émergence naturelle ou par induction avec un traitement léger.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'Etat dispose d'abondantes chêneraies naturelles servant de plantes hôtes sur l'ensemble de sa surface. Cependant, après estimation oculaire, les régions de chêne représentent approximativement de 100 000 hectares, dont un tiers a été identifié comme étant exploité pour produire la matière première recherchée pour la soie tassar du chêne.

Zones altitudinales :

A partir des différentes altitudes, la topographie de l'Etat, divisée en quatre zones/couches altitudinales, et la répartition par district des 72 localités d'élevage tassar à différentes altitudes sont données dans le tableau I.

Zone 1 :

Elle comprend seulement deux localités du district de Tamenlong situées entre 300 et 600 m d'altitude. Elle couvre moins de 5 % des zones de chêneraies totales. Un climat tropical de type mousson règne dans ces localités, d'où des précipitations importantes et une chaleur excessive (Fig. 3a). Elle est principalement constituée de forêts feuillues.

Zone 2 :

Elle couvre plus de 70 % des forêts de chênes exploitées en zone tempérée et sèche. Elle comprend la vallée de Manipur et les régions environnantes, en particulier les contreforts isolés des huit districts de l'Etat, répartis sur des altitudes de 601 à 1 200 m au-dessus du niveau de la mer. Le climat est plus chaud et les précipitations sont modérées dans les localités de cette zone (Fig. 3b) qui, étant pratiquement la région la plus peuplée de l'Etat, a subi une exploitation extensive.

Zone 3 :

Le chêne est relativement plus abondant dans cette zone qui comprend près de 20 % de la surface totale des chêneraies et dont les régions montagneuses de 1 201 à 1 800 m d'altitude bénéficient d'un climat plus frais et d'une pluviométrie moyenne (Fig. 3c). Ces régions se trouvent sur les pentes du nord-est de l'Etat, s'étendant des districts de Senapati et Ukhrul vers le district de Chandel mais elles sont en grande partie inaccessibles et sont exposées aux feux de forêt.

Zone 4 :

Une surface négligeable (environ 5 %) des districts d'Ukhrul et de Senapati forme cette zone dont les couches altitudinales varient de 1 801 à 2 400 m au-dessus du niveau de la mer. Elle est en grande partie inexploitée et laissée en friche en raison des difficultés de transport. Un climat sec et très froid règne sur cette zone.

Spectre climatique des saisons :

Les facteurs saisonniers ont pour conséquence des différences de diversité florale et de répartition de la faune suivant la région de l'Etat. De ce fait, Manipur présente un rythme saisonnier distinct dans son cadre climatique. En général, l'Etat connaît trois saisons principales : l'hiver (décembre à février), le printemps (mars à avril) et la mousson (mai à septembre) avec un automne court ou fin de mousson (octobre à novembre) (Fig. 4). Le début de l'hiver est marqué par une forte chute de la température jusqu'à 5° C dans la première semaine de décembre et par un temps très sec. Janvier est généralement le mois le plus froid, les températures maximales moyennes restent bien en-dessous de 22° C et les températures minimales moyennes, se combinant avec la vague de froid, tombent jusqu'à -1 ou -2°. En février, les températures commencent à remonter progressivement. Les brouillards sont très courants et la pluviométrie est la plus faible de l'année. Le printemps commence au début du mois de mars et est marqué par une augmentation soudaine de la température, la disparition du brouillard et des pluies occasionnelles accompagnées par un vent fort et des orages. Tandis que les matins sont frais et agréables, les après-midi sont généralement nuageux et humides. Mais la fréquence des pluies augmente à mesure que la saison passe. La mousson la plus longue, qui s'étend sur cinq mois de mai à septembre, commence au début du mois de mai. Cependant, la pluie de la mousson est plus intense et plus lourde en juin-juillet et comparativement plus modérée en août-septembre. La température maximale moyenne augmente, atteignant un degré maximum en juin, les précipitations sont maximales en juillet. Dans le même temps, l'Etat subit une humidité atmosphérique très élevée et un ciel couvert. Puis, à la fin septembre, le vent du sud-est tombe et la mousson faiblit au cours des deux mois suivants, c'est-à-dire octobre et novembre, constituant un automne de courte durée. La pluie diminue progressivement, les températures chutent et le ciel s'éclaircit, tandis que le temps reste beau et agréable.

Evolution d'*A. proylei* au cours des saisons :

Dans la présente étude, l'élevage d'*A. proylei* est réalisé principalement de mars à septembre mais la fréquence de succès de cet élevage présente des variations marquées suivant les mois de l'année. On observe que la meilleure performance est obtenue avec l'élevage de printemps (mars à avril), les détails de cet élevage sont présentés dans le tableau II. La qualité de l'élevage diminue à partir de la mousson (tableau III) jusqu'à la fin de la mousson (tableau IV) et à l'hiver. La température et l'humidité relative au printemps restent favorables sur l'ensemble de l'Etat, facilitant ainsi l'élevage et permettant une bonne production de cocons. Les fluctuations mensuelles ne suivent pas un schéma bien défini pendant la mousson, alors que les températures maximales moyennes et l'humidité relative deviennent maximales avec d'importantes fluctuations. De ce fait, l'élevage de la mousson est habituellement instable et imprévisible.

Le fait que les élevages de mousson (appelés récolte d'été) et de fin de mousson (récolte d'automne) dans les couches supérieures, c'est-à-dire au-dessus de 1 200 m mètres d'altitude, soient plus ou moins performants indique qu'*A. proylei* semble être sensible aux saisons, puisqu'on le trouve uniquement de juin à juillet et de septembre à novembre. Cela suggère en outre que les vers à soie tassar préfèrent vivre dans les régions de haute altitude durant la mousson. De plus, le fait qu'en cette saison les zones de montagnes deviennent plus hospitalières, la température y étant comparativement plus faible qu'en basse altitude, constitue une preuve supplémentaire de la préférence d'*A. proylei* pour les zones de montagne en période de mousson.

On peut donc dire qu'il y a une période principale et deux périodes de moindre importance d'élevage d'*A. proylei*, à savoir : mars-avril (printemps), juin-juillet (mousson) et septembre-novembre (fin de mousson ou automne), dans une année (Fig. 4).

Cependant, Hua-Sin (1987) précise que la région optimale pour l'élevage du tassar du chêne en Chine est située à une latitude d'environ 45° N ou au-dessus de 500 m d'altitude et centrée sur la péninsule de Liaodong et jamais au-delà de cette limite. Il semble que le ver à soie tassar soit bivoltin dans cette zone géographique où les conditions climatiques sont relativement rigoureuses (température moyenne de 14,1°C en mai et de 15°C en septembre) par rapport à celles de son habitat naturel, les provinces de Liaoning et de Shantung, à environ 40° de latitude Nord où le climat est de nature totalement tempérée. Il a également observé que, même à l'intérieur de cette zone, l'élevage est difficile car l'insecte n'arrive pas à terminer sa deuxième génération. Cette condition est conforme

aux conditions présentes dans l'Etat de Manipur.

CONCLUSION

La présente étude traite de la possibilité de l'élevage d'*A. proylei* en fonction de l'altitude et du climat dans le pourtour montagneux de Manipur en Inde compris entre 23 et 25°41' de latitude Nord. Cette étude porte sur 72 localités situées à des altitudes variant de 300 à 2 400 m au-dessus du niveau de la mer. Cependant, il apparaît que les localités situées de 1 201 à 1 400 m d'altitude présentent des conditions plus propices aux élevages de vers à soie tassar en période de mousson.

En ce qui concerne le schéma météorologique des saisons et l'abondance saisonnière, il est généralement admis qu'*A. proylei* se développe mieux sous des climats semi-tempérés à tempérés. De tels climats propices se trouvent dans les zones de moyenne et de haute altitude de l'Etat. La présente étude révèle ainsi qu'*A. proylei* s'est établi de façon certaine dans la topographie et les conditions agro-climatiques de Manipur et prouve donc la faisabilité de la culture tassar du chêne. On peut donc conclure que l'exploitation de la culture tassar du chêne constitue une stratégie idéale pour améliorer l'économie dans l'Etat de Manipur en apportant un revenu monétaire aux éleveurs de ces cocons.

VARIATIONS DES TAUX DE SYNTHÈSE DES PROTÉINES DE CHOC THERMIQUE HSP70 ENTRE LA PONTE ET LA NEURULA CHEZ L'EMBRYON DIAPAUSANT DE VER À SOIE *BOMBYX MORI*

M. COULON-BUBLEX* & J. MATHELIN**

*Centre de Génétique moléculaire et cellulaire, UMR 106 CNRS, Université Claude Bernard Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

** Laboratoire de Cytologie et Physiologie des Arthropodes, URA 674 CNRS, Université de Dijon, 6, boulevard Gabriel, F-21000 Dijon, France.

L'analyse quantitative des fluorographies d'électrophorèses bidimensionnelles (2D) des protéines synthétisées par l'embryon de Bombyx mori est effectuée. Des protéines de stress hsp70 sont synthétisées après traitement par choc thermique et/ou acide pendant l'embryogenèse sauf pendant deux phases réfractaires : le stade préblastodermique et la diapause profonde. La synthèse des hsp70 peut être induite à nouveau dès la fin de la phase de réactivation à 5 °C (c'est-à-dire après 35 jours à 5 °C). Une protéine P70 ayant les caractéristiques d'une hsc70, protéine apparentée aux hsp70, est synthétisée de manière prépondérante pendant la diapause profonde. Les ARN messagers de Bombyx hybrident avec l'ADN du gène hsp70 de Drosophila.

Mots-clés : *Bombyx mori*, embryon, diapause, protéines famille hsp70, ARN, analyse densitométrique.

INTRODUCTION

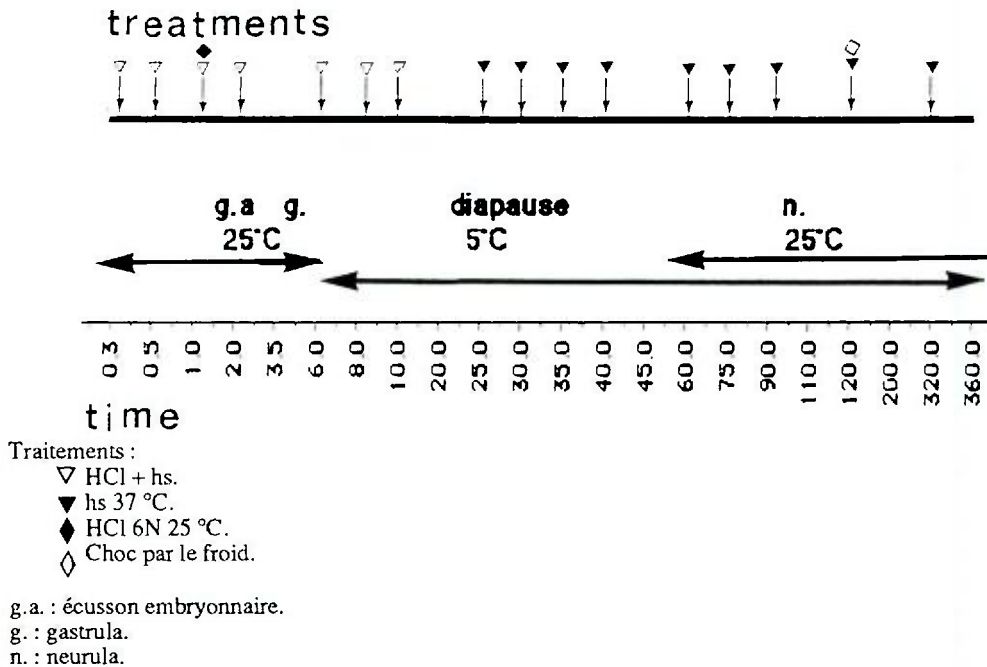
L'ensemble des organismes - de la bactérie à l'homme - répondent à un stress par la synthèse de quelques protéines : les protéines de stress ou "heat-shock proteins", hsp (Cf. les revues de Nover et coll., 1984 ; Craig, 1985 ; Linquist, 1986 ; Bond et coll., 1987). Trois groupes de protéines hsp ont été décrits, définis par leur poids moléculaire : hsp84 (insectes) et hsp90 (vertébrés), hsp70, les hsp légères (PM de 20 kDa à 30 kDa). Les gènes codant pour les protéines du groupe des hsp70 sont très conservés de la bactérie à l'homme (> 80 % d'homologie). Cependant, les auteurs ont décrit des phases réfractaires durant lesquelles les hsp70 ne peuvent être induites après choc thermique. Durant ces phases, les organismes sont thermosensibles, les stades préblastodermiques de l'embryogenèse de la drosophile en sont un exemple (Dura, 1981). D'autre part, des protéines dites "heat shock cognate" (hsc) sont synthétisées au cours du développement, leur synthèse étant régulée de manière spatio-temporelle. Ces protéines sont codées par des gènes apparentés à ceux des hsp (Linquist et coll., 1986) ; des gènes hsc 70 ont été séquencés, ils présentent de fortes homologies avec les gènes hsp70 (Palter et coll., 1986 ; Linquist et coll., 1988).

Nous avons montré que le traitement HCl + hs induisait la synthèse de protéines hsp70 dans l'embryon de ver à soie (Dorel et coll., 1988 ; Coulon-Bublex et coll., 1991). Ce traitement permet de prévenir la diapause s'il est pratiqué entre 18h et 100-110 h après la ponte (à 25 °C), c'est-à-dire avant l'initiation de la diapause (Coulon, 1988). Nous avons démontré que l'embryon diapausant synthétise une protéine "Diapause Arrest Associated Protein" à partir de 48 h de développement (stade gastrula) ; cette synthèse continue durant la diapause profonde à 25 °C et les 30 premiers jours après

la mise au froid des oeufs, phase dite de réactivation (Dorel, 1986 ; Coulon-Bublex, 1991). A ce moment, il est possible, par un traitement HCl + hs, d'induire la synthèse des protéines hsp70 et la reprise de l'embryogenèse. Nous présentons ici l'analyse quantitative des fluorographies d'électrophorèses bidimensionnelles des protéines synthétisées, à température normale ou après choc thermique, par l'embryon de ver à soie durant l'embryogenèse précoce, la diapause et les premières heures de reprise du développement post-diapause. Ainsi, nous répondrons à la question : l'impossibilité d'induire soit le développement continu (à partir de 110 h de développement), soit la reprise de l'embryogenèse (avant 35-40 jours à 5 °C) est-elle corrélée à une absence de synthèse des protéines hsp70 ?

MATERIEL ET METHODES

Les chrysalides sont issues des élevages de "l'Unité nationale séricicole" de Lyon ; après émergence des papillons, les oeufs hybrides des races européennes 200 et 300 sont collectés à 25 °C toutes les heures afin de synchroniser l'embryogenèse. Ils sont incubés à 25 °C pendant 5, 10 ou 25 jours, puis placés à température contrôlée de 5 °C. Les traitements suivants ont été appliqués à différents stades de développement (cf. schéma ci-dessous) : choc acide par HCl 4N + choc thermique à 46 °C durant 7 mn, choc acide par HCl 6N à 25 °C durant 60 mn, choc thermique à 37 °C durant 6 h. Les embryons sont isolés du vitellus sous la loupe et incubés en présence de méthionine 35S pendant 6 h (20 µCi dans 50 µl de solution physiologique NaCl 0,1 M).



Les protéines sont extraites et soumises à une électrophorèse (IEF puis SDS) selon le protocole décrit par O'Farrell (1975) et modifié par Dorel et coll. (1988). Notons que l'électrophorèse est pratiquée à température constante de 20 °C et de manière simultanée pour 8 gels (plaques réfrigérées SEBIA) ; les gels sont ensuite traités de manière rigoureusement constante afin de permettre une interprétation fiable des données obtenues par l'analyse densitométrique effectuée par scanner.

Les protéines étant fixées par un mélange acide acétique-alcool, les gels sont réhydratés et imprégnés par du salicylate de sodium (Dorel et coll., 1988). Les protéines radioactives ainsi

immobilisées sont révélées à -80 °C sur film Kodak X Omat AR5 : fluorographies 2D. Les différentes fluorographies 2D sont comparées à une fluorographie de référence à l'aide du programme Gemini, Joyce Loeb Ltd. (1988). Les spots sont caractérisés par leurs coordonnées orthogonales, l'analyseur apparie les spots homologues. Après une analyse exhaustive de quelques gels, celle-ci a été limitée à une portion de gel correspondant à la densité maximum de spots dans nos conditions expérimentales soit : Pi compris entre 6.5 et 5.4, PM variant entre 100 kDa et 20 kDa. Un seuil de détection a été fixé à la lecture par l'analyseur afin d'éliminer le bruit de fond. La synthèse relative pour un spot donné (% de synthèse relative) est calculée par rapport à la somme des synthèses d'un nombre défini de spots représentant la majorité des synthèses pour un ensemble de stades.

Les ARN sont extraits de 500 mg ou 1000 mg d'oeufs aux stades appropriés ou 30 mn après le choc thermique, et traités selon la méthode décrite par Michaille (1990) ; les traductions *in-vitro* sont effectuées selon la méthode décrite par Coulon-Bublex et coll. (1991). Les dépôts en "dot blots", les sondes marquées, les hybridations sont effectués selon le protocole décrit par Michaille (1990). La sonde 132E3 contenant le gène hsp70 de *Drosophila* (Moran et coll., 1979) nous a été fournie par Dr Mirault.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Les protéines de choc thermique hsp70 de *Bombyx*.

Un choc thermique bref (7 mn à 46 °C) ou long (6 h à 37 °C) induit chez *Bombyx* la synthèse de protéines de PM 70-74 kDa et de pI 5.85-5.95 (Coulon-Bublex et coll., 1991). Les patterns protéiques (Fig. 1) montrent que ces protéines, quelle que soit la modalité du traitement, ont la même mobilité électrophorétique que les protéines de stress hsp70 de *drosophile* induites par un choc thermique de 3 h à 37 °C chez les ovaires (comparer Fig. 1b et 1e). La protéine P70 (70kDa, pI 5.65) comigre avec une protéine de la famille des hsp70, la hsc70 de *drosophile* (Palter et coll., 1986). Au stade écusson embryonnaire nous avons mis en évidence la synthèse de protéines ayant la même mobilité électrophorétique que hsp70 (Dorel et coll., 1988) (Fig. 1a).

L'analyse densitométrique et l'appariement des spots par scanner permet d'obtenir une estimation comparative de l'intensité de synthèse des différentes protéines observées en fluorographie 2D ; un exemple de ces analyses est donné Fig. 2. Nous observons que les spots N° 20 et 21, protéines P72 et P74, sont appariés aux spots correspondant aux hsp70 (P70-74, Fig. 2e et Coulon-Bublex et coll., 1991). Au seuil de sensibilité choisi, un grand nombre de spots détectés à 25 °C ne le sont plus après le choc thermique, cependant si le stress est bref (7 mn à 46 °C), la répression des synthèses est moins intense que pour un stress long (6 h à 37 °C) (Dorel, 1986, et non publiées). Le taux de synthèse relatif est déterminé par rapport à l'intensité de synthèse de 61 spots représentant 75 % de la synthèse totale détectée (cf. méthodes) ; les données obtenues pour les stades écusson embryonnaire et gastrula sont portés au tableau I. Le taux de synthèse de P70 est augmenté d'un facteur 3,5 à 4 lors d'un stress à 46 °C, le taux de synthèse de P70-74 (P72+P74 d'une part et hsp70 d'autre part) est multiplié par un facteur 10 par rapport au taux observé au stade écusson embryonnaire et par un facteur supérieur à 40 par rapport au niveau de base (observé aux stades blastoderme ou gastrula).

Les ARN totaux extraits des oeufs sont hybridés à la sonde 132E3 (Moran et coll., 1979) contenant le gène codant pour les protéines hsp70 de *drosophile*. Nous montrons sur les dot-blots Fig. 1B que, même dans des conditions de stringence élevée, ces ARN et ADN s'hybrident quel que soit le stade embryonnaire. L'intensité du signal varie, le facteur d'augmentation est de 4 entre les stades préblastoderme (8 h) et écusson embryonnaire (Fig. B3 et B2), puis il décroît au stade gastrula précoce pour revenir au niveau initial (Fig. B4). Le traitement par choc thermique augmente l'intensité du signal d'hybridation au stade écusson embryonnaire d'un facteur 4 (B1), et d'un facteur 8 aux autres stades.

Les ARN totaux extraits des oeufs sont traduits *in-vitro* en milieu acellulaire. La Fig. 3 montre que les ARNm traductibles en protéines hsp70 ne sont pas observés après choc thermique des embryons au stade préblastoderme (5 h, Fig. 3b), la synthèse des hsp70 étant très augmentée lors d'un stress au stade écusson embryonnaire (24 h, Fig. 3c).

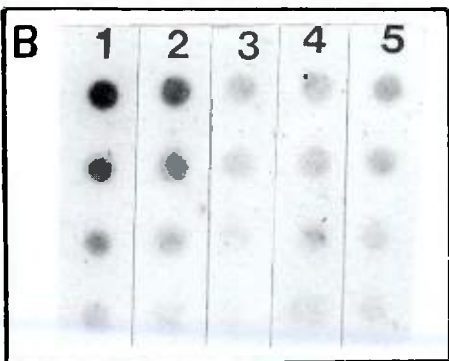
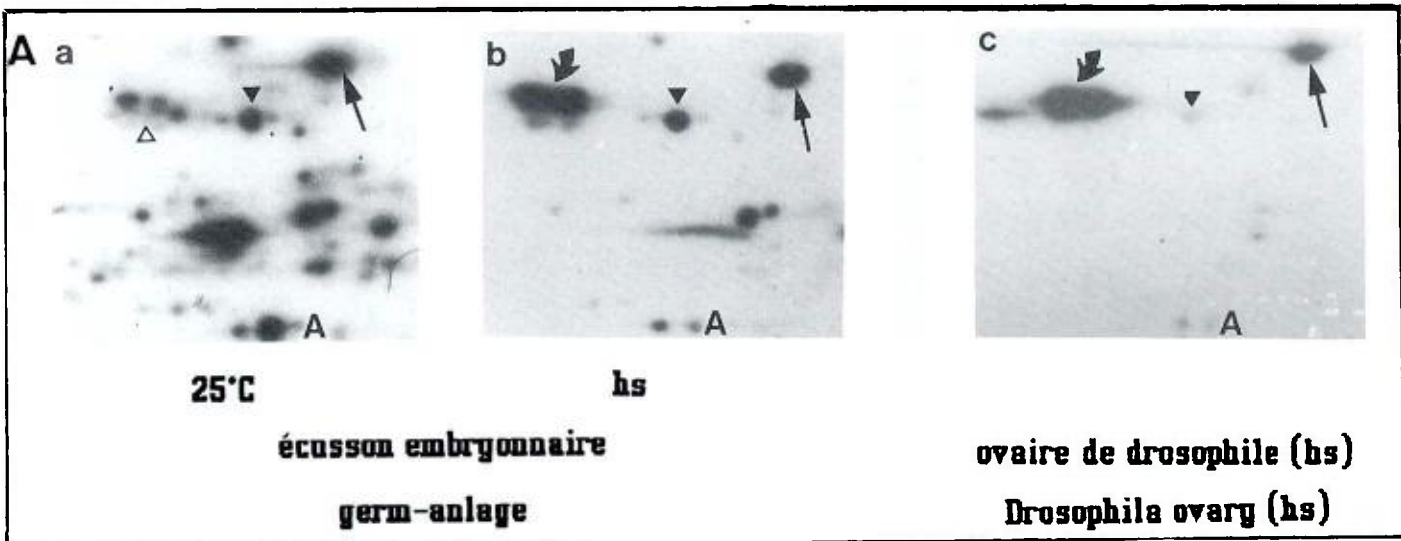


Fig. 1 : Mise en évidence des protéines hsp70 synthétisées par l'embryon de ver à soie après un choc thermique au stade écusson embryonnaire ; relation avec les protéines hsp70 de drosophile.

A. a : synthèse des protéines à 25 °C de l'embryon de ver à soie au stade écusson embryonnaire ;

A. b : synthèse des protéines après choc thermique de l'embryon au même stade ;

A. c : synthèse des protéines après choc thermique de l'ovaire de drosophile.

B : "dot blots" des ARN extraits des oeufs de ver à soie et hybridés avec la sonde 132E3 (Moran, 1979) ; l'ARN extrait des oeufs au stade écusson embryonnaire après choc thermique (1) et à 25 °C (2), au stade préblastoderme (3), au stade gastrula en diapause (4) et gastrula (120 h) après choc thermique (5). Sur la première ligne, 5 µg d'ARN ont été déposés puis une quantité moitié moindre sur chacune des 3 lignes suivantes.

▀ hsp70, △ P74, ▲ P70-hsc70, A : Actine, hsp84.

Fig. 1 : Determination of hsp70 proteins synthesized by the silkworm embryo at germ-anlage stage after a heat shock, relationship with hsp70 proteins of *Drosophila*.

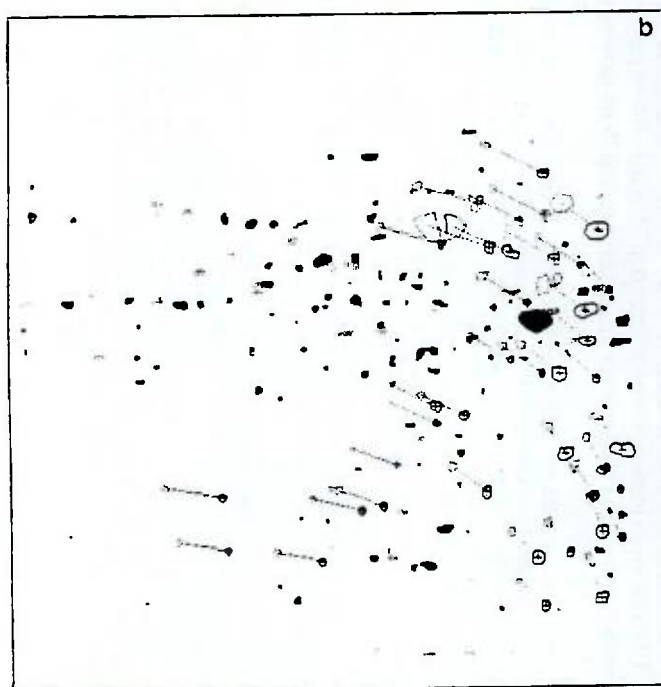
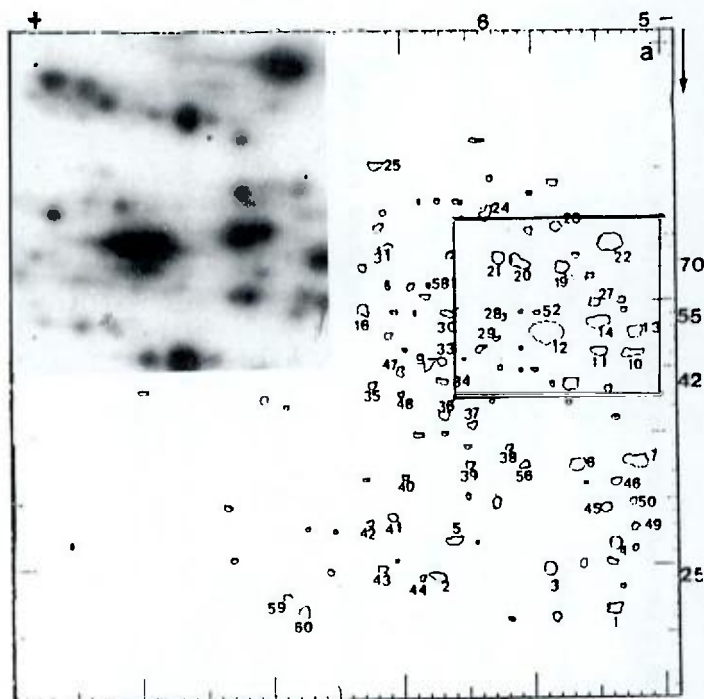
A. a : synthesis of the proteins at 25 °C of the silkworm embryo at germ-anlage stage ;

A. b : synthesis of the proteins after a heat shock of the embryo at the same stage ;

A. c : synthesis of the proteins after a heat shock of *Drosophila* ovary.

B : dot blots of the RNAs extracted from the silkworm eggs and hybridized with probe 132E3 (Moran, 1979) ; the RNA extracted from the eggs at germ-anlage stage after a heat shock (1) and at 25 °C (2) in the pre-blastoderm stage (3), in the diapause gastrula stage (4) and gastrula (120 h) after the heat shock (5). On the first line 5 µg RNA were deposited then half as much was deposited on each of the following 3 lines.

▀ hsp70, △ P74, ▲ P70-hsc70, A : Actin, hsp84.



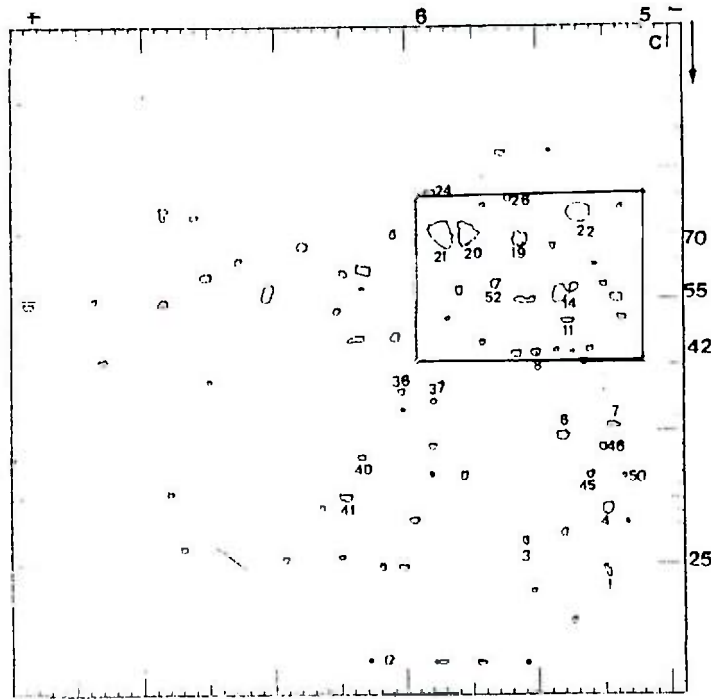


Fig. 2 : Analyse densitométrique des fluorographies des électrophorèses 2D des protéines synthétisées par l'embryon de ver à soie au stade écusson embryonnaire, étude de l'appariement des spots observés à 25 °C aux spots observés après choc thermique.

a : écusson embryonnaire à 25 °C ; b : appariement des spots observés au stade écusson embryonnaire à 25 °C et après choc thermique ; c : écusson embryonnaire après choc thermique.

Ces graphes mettent en évidence la correspondance des spots observés après choc thermique avec ceux observés à 25 °C.

Portion des gels 2D représentés Fig. 1a et 1b. Spots N° 20-P72, 21-P74, 19-P70 = hsc70, 22-P84 = hsp84, 8-P42 = actine, 14-P54-55 = tubulines, 12-P53, 29-P52, 20+21-P70-74 = hsp70.

Fig. 2 : Densitometric analysis of 2D electrophoresis fluorographies of the proteins synthesized by the silkworm embryo at germ-anlage stage. Pairing of the spots observed at 25 °C to the spots observed after the heat shock.

a : germ-anlage at 25 °C ; b : pairing of the spots observed at germ-anlage stage at 25 °C after the heat shock ; c : germ-anlage after the heat shock.

These graphs clearly show the correspondence of the spots observed after the heat shock with those observed at 25 °C.

portion of the 2D gels represented in Fig. 1a and 1b. Spots no. 20-P72, 21-P74, 19-P70 = hsc70, 22-P84 = hsp84, 8-P42 = actin, 14-P54-55 = tubulins, 12-P53, 29-P52, 20+21-P70-74 = hsp70.

Tableau I. Intensité relative de synthèse des protéines P70, P70-74 et hsp70 en pourcentage de l'intensité totale des synthèses de 61 spots communs à tous les fluorogrammes.

Table I : Per cent relative intensity of the synthesis of P70, 70-74 and hsp70 proteins of the total synthesis intensity of 61 spots common to all the fluorograms.

	Ecusson emb. <i>Germ-anlage</i>	Ecusson emb. hs <i>Germ-anlage hs</i>	Gastrula <i>Gastrula</i>	Gastrula hs <i>Gastrula hs</i>
P70 (N° 19)	2,0	8,0	3,1	10,5
P72+P74 (N° 20 + 21)	4,2		1,0	
P70-74 (N° 20 + 21)		41,4		42,3
hsp70				

Des embryons âgés de 24h sont traités à HCl 6N à 25 °C. Les ARN extraits de ces oeufs peuvent être traduits *in-vitro* et on observe alors une augmentation de la synthèse des protéines hsp70 (Fig. 3d). Un traitement par d'autres agents tel que l'arsénite, induisent la synthèse des protéines hsp70 (Dorel, 1986).

En conclusion, nous avons montré que, chez le ver à soie *Bombyx mori*, des protéines de stress hsp70 sont synthétisées à la suite d'un choc thermique ou d'autres stress tel qu'un traitement à l'HCl 6N ou à l'arsénite (Nover et coll., 1984). L'induction des hsp70 n'est pas observée durant la phase de mitoses syncytiales avant la formation du blastoderme entre 0 h et 6 h de développement, comme cela a été décrit chez la drosophile (Dura, 1981 ; Bergh et coll., 1984). Une protéine P70 ayant la même mobilité électrophorétique que hsc70 de drosophile est, chez ces deux insectes, synthétisée tout au long du développement (Palter et coll., 1986 ; Coulon-Bublex et coll., soumis). Chez la drosophile, le gène codant pour hsc70 présente 82 % d'homologies avec le gène codant pour hsp70 (Craig et coll., 1983; Palter et coll., 1986), gène avec lequel hybrident les ARN extraits des embryons de ver à soie. Le signal faible enregistré à tous les stades de développement testés peut correspondre à la présence des ARNm de P70. Les traductions *in-vitro* des ARN d'embryons extraits après choc thermique montrent que les messagers des protéines synthétisées avant le stress sont toujours présents et traductibles en milieu acellulaire, ce qui est en accord avec les résultats obtenus chez la drosophile ; *in-vivo*, les ARNm des protéines de stress sont traduits préférentiellement (Storti et coll., 1980 ; Linquist, 1980).

Ces observations permettent d'expliquer les différences entre les augmentations des signaux d'hybridation d'une part et les taux de synthèse relative d'autre part. Enfin, l'ensemble de ces données tendent à montrer que P74, P70, et P70-74 appartiennent à la famille des protéines de stress hsp70.

2. Analyse densitométrique des patterns protéiques aux stades blastoderme, écusson embryonnaire, gastrula et neurula.

L'étude est faite en comparant les fluorographies 2D à un même gel de référence du stade écusson embryonnaire dont les spots sont numérotés (Fig. 2a). Trois groupes de protéines peuvent être observés :

1- Des protéines synthétisées à tous les stades, leur taux de synthèse fluctuant peu selon les stades, par exemple N° 1, 4, 7, 3, 9, 10, 11, 13, 18, 23, 28, 32, 33, 35, 58. Le taux de synthèse de certaines protéines de ce groupe peut être très élevé comme dans le cas des spots N° 19 (P70), N° 8 (actines), N° 14 (tubulines).

2- Des protéines synthétisées à un taux élevé à un ou deux des stades étudiés et dont la synthèse est à peine détectable aux autres stades. Deux exemples sont donnés: P53 (N° 12) pour laquelle le

taux de synthèse relatif de 10 % au stade écusson embryonnaire chute à 1-2 % aux autres stades; la protéine P52 (N° 29) voit son taux de synthèse relative de moins de 1 % à 5 % en gastrula atteindre 17 % en neurula. Il apparaît que la protéine hsp84 (N° 22) est plus intensément synthétisée en début d'embryogenèse.

3- Le troisième groupe comprend les protéines spécifiques de stade, aux stades blastoderme et écusson embryonnaire précoce des protéines hsp légères (N° 2, 41, 60) sont synthétisées (Coulon-Bublex et coll., soumis), les protéines P74 (N° 20-21) sont spécifiques du stade écusson embryonnaire (Dorel et coll., 1988) et P61 (N° 61) est spécifique du stade gastrula (diapausante) (Coulon-Bublex et coll., 1991).

Ces protéines étudiées durant la phase d'embryogenèse vont être suivies durant la période de diapause.

3. Etude des synthèses protéiques durant la diapause.

Plusieurs phases peuvent être mises en évidence au cours de la diapause embryonnaire du ver à soie (cf. Coulon, 1984). L'embryogenèse étant bloquée au stade gastrula, on peut cependant observer des modifications du pattern protéique. Nous avons décrit trois phases (Dorel, 1986; Coulon-Bublex et coll., 1991); les résultats sont résumés ci-dessous.

* La phase d'initiation (de 72 h à 110-120 h), le pattern protéique correspond à celui du stade gastrula des embryons non diapausants, une protéine spécifique P61 est synthétisée (Diapause Arrest Associated Protein, spot N° 61). Cette phase est également marquée par un pic d'ecdysone spécifique à l'oeuf diapausant (Coulon, 1988).

* La phase de diapause profonde correspond au blocage de l'embryogenèse à 25 °C qui peut être variable en temps de 0 jour à plusieurs mois (estivation). Pendant cette phase, la synthèse des protéines est déprimée, on ne détecte sur les patterns protéiques que les synthèses de P61 et P70. Les ARN traductibles *in-vitro* représentent un plus grand nombre d'espèces, leur taux de synthèse étant très faible à l'exception de P70 et P61 (Dorel et coll., 1986).

* Au cours de la phase de réactivation à 5 °C, la synthèse de P61 diminue pour devenir nulle après 35 jours à 5 °C, la synthèse de P74 devenant alors détectable (Coulon-Bublex et coll., 1991).

La réponse au stress des embryons au cours de chacune de ces trois phases diffère. La phase d'initiation et la fin de la réactivation sont des phases sensibles, alors que la diapause profonde est une phase de résistance au stress (Teulade, 1968; Coulon, 1966, 1967). L'étude des patterns protéiques après choc thermique et choc acide permet de préciser les caractéristiques de chacune de ces phases.

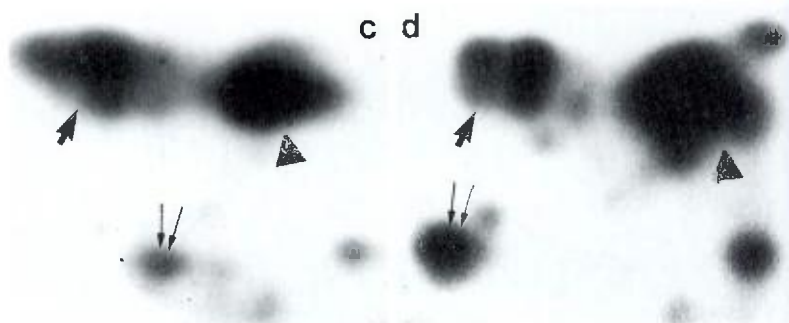
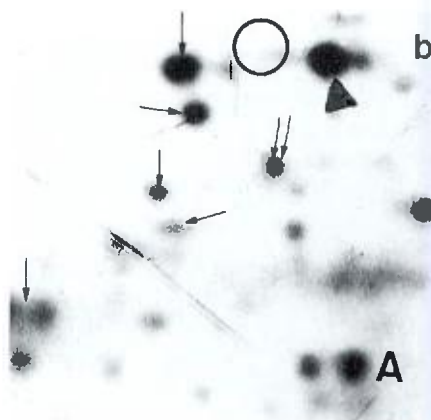
Afin d'effectuer une analyse quantitative objective nous avons dû sélectionner, sur la fluorographie 2D de référence, 13 spots correspondant aux protéines communes à l'ensemble des stades de diapause étudiés (à l'exception cependant de la diapause profonde), ces spots représentent 99 % des synthèses détectées à 35 jours de réactivation à 5 °C (Fig. 4a), mais seulement 68 % et 78 % des synthèses à 120 jours à 5 et à la reprise de l'embryogenèse à 25 °C respectivement. Ils représentent une minorité des spots majeurs aux stades prédiapause, écusson embryonnaire et gastrula (34 % et 32 % respectivement).

Chez les embryons de 90 h ou 140 h, on observe, après un stress, une diminution du taux relatif de synthèse (par rapport à la somme des 13 spots) des hsp70, spots N° 21 et N° 20 (comparer les Fig. 5B, 5C et 5D). On observe que le taux de synthèse de P61 (spot N° 61), bien que diminuant lors du stress, reste supérieur à 20 %; à 140 h, le taux de synthèse de P61 (25 %) compense la perte de synthèse enregistrée pour hsp70 (50 % à 48 h - 25 % à 140 h). Pendant la phase de diapause profonde, la synthèse de protéines de stress n'est pas induite, aucun ARNm traductible *in-vitro* en hsp70 n'est transcrit (Fig. 3e); au contraire, on détecte la synthèse intense des protéines P61 et P70. L'intensité du signal obtenu en hybridant les ARN déposés en dot-blot avec la sonde contenant le gène Hsp70 augmente d'un facteur 2 pour les ARN extraits des oeufs stressés à 120 h (Fig. 1B5) et reste au niveau initial pour ceux traités après 10 jours à 25 °C.

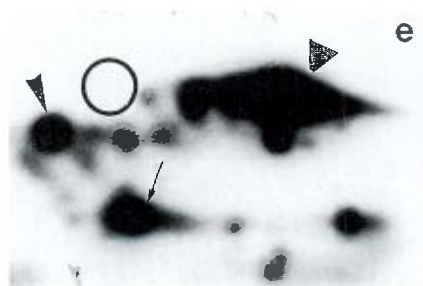
La phase de réactivation à 5 °C se caractérise par l'absence d'induction de hsp70 jusqu'à 30 jours (présence d'une synthèse de P61) et l'augmentation de la synthèse de hsp70 (appariées aux spots N° 20-21 Fig. 4c) à partir de 35 jours de réactivation, soit au moment où les protéines de la famille des hsp70 sont synthétisées à 5 °C (cf. Fig. 5E et F, N° 21). Lors de la reprise de l'embryogenèse, la synthèse de hsp70 n'est pas observée à 25 °C, mais un choc thermique induit cette synthèse (Fig. 4d



préblastoderme
preblastoderm



écusson embryonnaire
germ-anlage



gastrula (diapause)

Fig. 3 : Traduction *in-vitro* des ARN extraits des oeufs de ver à soie, mise en évidence de la synthèse des hsp70.

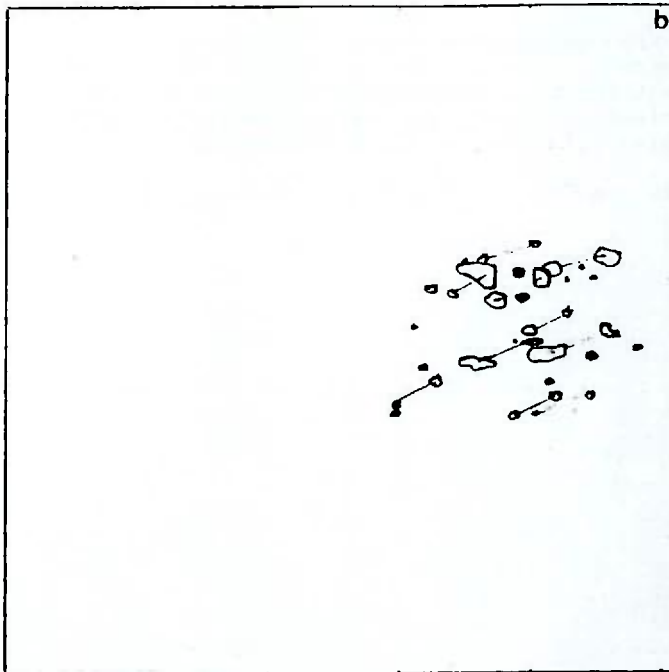
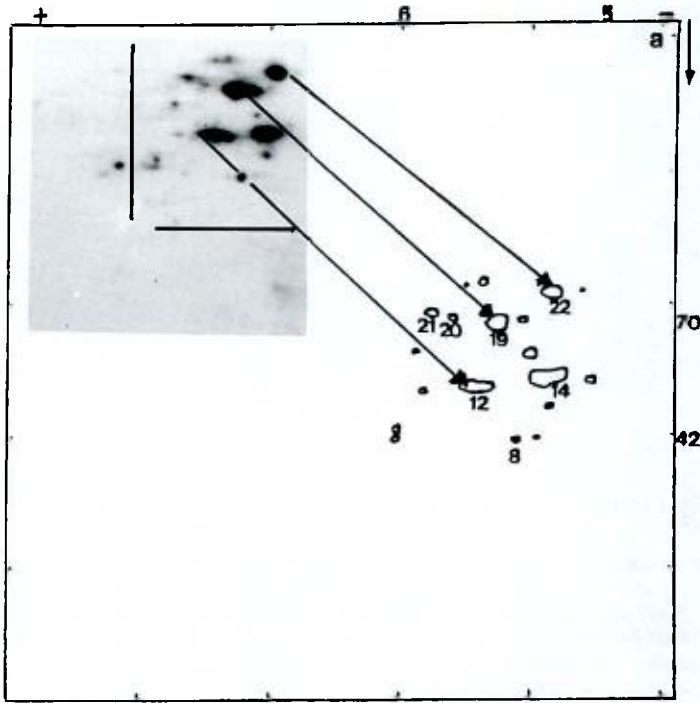
- a : ARN extraits des oeufs au stade préblastoderme, 5 h de développement ;
- b : ARN extraits des oeufs au stade préblastoderme 30 mn après choc thermique ;
- c : ARN extrait des oeufs au stade écusson embryonnaire 30 mn après choc thermique ;
- d : ARN extrait au stade écusson embryonnaire après stress acide (HCl 6N à 25 °C 60 mn) ;
- e : ARN extraits d'oeufs après choc thermique en diapause profonde.

↙ protéines comigrant, ▲ P70, ⚡ hsp70, A actine, ▲ P61, ○ absence de hsp70.

Fig. 3 : In vitro translation of the RNAs extracted from silkworm eggs ; examination of hsp70 synthesis.

- a : RNAs extracted from the eggs at pre-blastoderm stage, 5 hr of development ;
- b : RNAs extracted from the eggs at pre-blastoderm stage 30 min. after the heat shock ;
- c : RNA extracted from the eggs at germ-anlage stage 30 min. after the heat shock ;
- d : RNA extracted in the embryonic scutellum stage after acid stress (6N HCl at 25 °C, 60 min.) ;
- e : RNAs extracted from the eggs after heat shock during the deep diapause.

↙ comigrating proteins, ▲ P70, ⚡ hsp70, A actine, ▲ P61, ○ absence of hsp70.



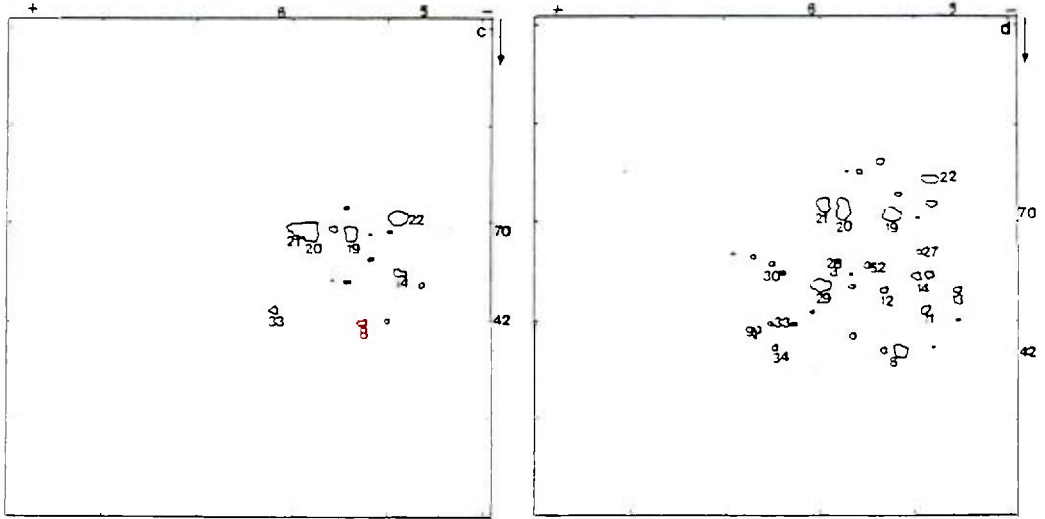


Fig. 4 : Analyse densitométrique des fluorographies des électrophorèses 2D des protéines synthétisées à 5 °C par l'embryon de ver à soie au jour 35, étude de l'appariement des spots observés à 5 °C aux spots observés après choc thermique.

a : gastrula réactivée à 5 °C ;

b : appariement des spots observés au stade gastrula réactivée à 5 °C et après choc thermique ;

c : gastrula réactivée à 5 °C traitée par choc thermique ;

d : stade post-neurula après choc thermique.

Ces graphes mettent en évidence la correspondance des spots observés après choc thermique avec ceux observés à 5 °C. Les protéines correspondent aux spots N° 8-P42 actine ; 14 : tubulines ; 22 : hsp84 ; 19 : hsc70 ; 20-21 : P70-74 = hsp70 ; 12 : P53 ; 29 : P52.

Encart : fluorographie 2D des protéines synthétisées à 5 °C à 35 jours de réactivation.

Fig. 4 : Densitometric analysis of the 2D electrophoresis fluorographies of the proteins synthesized at 5 °C by the silkworm embryo on day 35, study of the pairing of the spots observed at 5 °C to the spots observed after the heat shock.

a : gastrula reactivated at 5 °C ;

b : matched spots observed at gastrula stage reactivated at 5 °C and after the heat shock ;

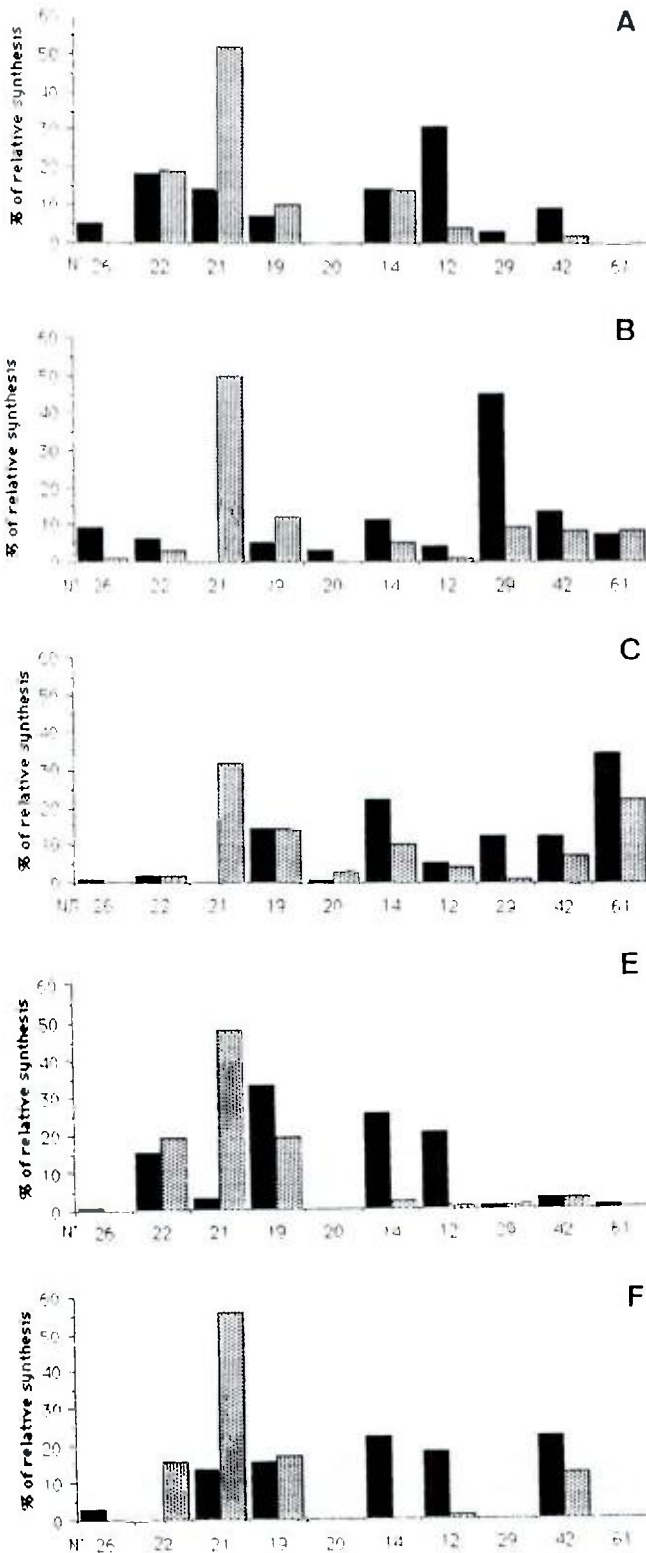
c : gastrula reactivated at 5 °C treated with a heat shock ;

d : post-neurula stage after the heat shock.

These graphs emphasize the correspondence of the spots observed after the heat shock with those at 5 °C. The proteins correspond to spots no. 8-P42 actin ; 14 : tubulins ; 22 : hsp84 ; 19 : hsc70 ; 20-21 : P70-74=hsp70 ; 12 : P53 ; 29 : P52.

Insert : 2D fluorography of the proteins synthesized at 5 °C at 35 days of reactivation.

VARIATIONS DES TAUX DE SYNTHÈSE DES HSP70



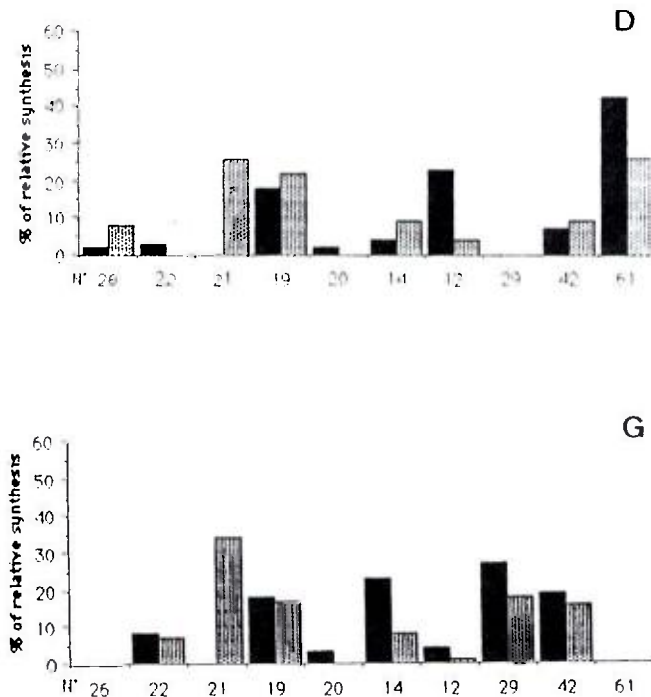


Fig. 5 : Variations du taux de synthèse relative de quelques protéines observées dans l'embryon de ver à soie diapausant entre les stade écusson embryonnaire et neurula.

Le pourcentage de synthèse relative est calculé ici par rapport à la synthèse totale de 13 spots communs à tous les électrophorégrammes et représentant 99 % des synthèses au jour 35 à 5 °C. **Prédiapause A** : 24 h, écusson embryonnaire ; **B** : 48 h, gastrula. **Initiation de la diapause C** : 90 h. **Premières heures de diapause D** : 140 h. **Fin de phase de réactivation à 5 °C E** : 35 j. **Levée de diapause à 5 °C F** : 120 j. **Reprise de l'embryogenèse à 25 °C G** : neurula.

Les embryons sont bloqués en gastrula C, D, E. La synthèse relative des protéines de l'embryon est observée à température normale de développement : 25 °C (A, B, C, D et G) ou 5 °C (E et F) ou après choc thermique. Les protéines correspondent aux spots N° : 26-P90, 22-hsp84, 21-hsp70, 19-hsc70, 20-P72, 14-tubuline, 12-P53, 29-P52, 42-actine, 61-P61.

Fig. 5 : Variations in the rate of relative synthesis of some proteins observed in the diapausing silkworm embryo between the germ-anlage and neurula stages.

The percentage of relative synthesis is worked out in relation to the total synthesis of 13 spots common to all the electrophoregrams and representing 99 % of the syntheses on day 35 at 5 °C.

Pre-diapause A : 24 hr, germ-anlage ; **B** : 48 hr, gastrula. **Diapause initiation C** : 90 hr. **First hours of diapause D** : 140 hr. **End of the reactivation phase at 5 °C E** : 5 days. **Diapause breaking at 5 °C F** : 120 days. **Embryogenesis resumption at 25 °C G** : neurula.

The embryos were arrested in gastrula C, D, E. The relative synthesis of the embryo's proteins was observed at normal temperature of development : 25 °C (A, B, C, D and G) or 5 °C (E and F) or after the heat shock. The proteins correspond to spots no. : 26-P90, 22-hsp84, 21-hsp70, 19-hsc70, 20-P72, 14-tubulin, 12-P5, 29-P52, 42-actin, 61-P61.

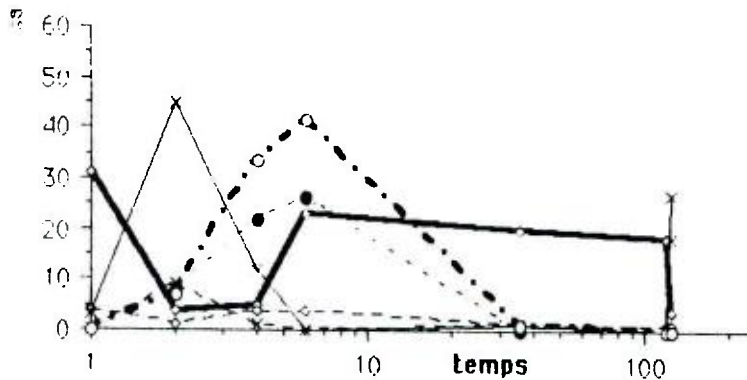
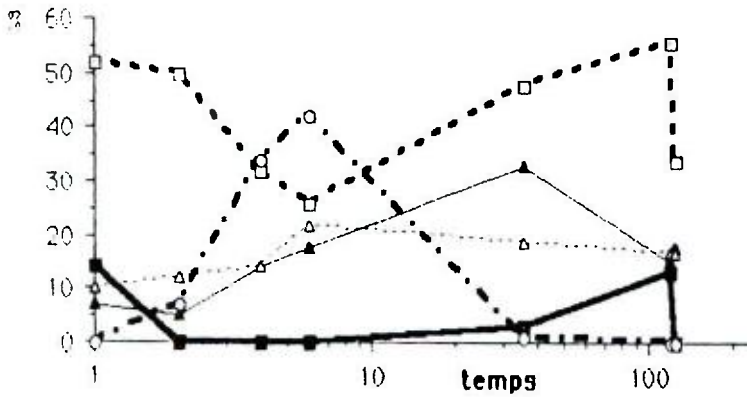


Fig. 5 (Suite).

Graph I : synthèse relative des protéines de la famille hsp70. **Graph II :** synthèse relative des protéines P52 et P53, on observe un taux de synthèse maximum de P53 au stade correspondant à la fin des mitoses syncytiales et au blocage des mitoses durant la diapause, le taux maximum pour P52 est enregistré pendant la gastrulation et la neurula ; le taux maximum de synthèse de P61 correspond au blocage du développement en gastrula.

————— Synthèses à 25 °C ou 5 °C, ————— Synthèses en choc thermique
 Synthèses à 25 °C : ■ P70-74 ▲ P70 X P52 ○ P53 □ P61
 Synthèse après choc thermique : ■ hsp70 ▲ P70 X P52 ○ P53 □ P61.

Fig. 5 (Continued).

Graph I : relative synthesis of hsp70 family proteins. **Graph II :** relative synthesis of proteins P52 and P53 ; the maximum synthesis rate of P53 was observed in the stage corresponding to the end of syncytial mitoses and to the arrest of mitoses during the diapause ; the maximum rate for P52 was recorded during gastrulation and neurula ; the maximum synthesis rate of P61 corresponds to the developmental arrest in gastrula.

————— Synthèses at 25 °C, ————— Synthèses during heat shock
 Synthèses at 25 °C : ■ P70-74 ▲ P70 X P52 ○ P53 □ P61
 Synthèses after a heat shock : ■ hsp70 ▲ P70 X P52 ○ P53 □ P61

et 5G).

La synthèse à 5 °C des protéines de la famille des hsp70 peut-elle être considérée comme une réponse à un stress ou, comme cela est observé au stade écusson embryonnaire, être en relation avec les processus d'initiation du génome embryonnaire (Dorel et coll., 1986) ? Pour répondre à cette question, nous avons placé des embryons en phase de morphogenèse à 5 °C ou 0 °C. Ces embryons, de souche polyvoltine (Nistari) au stade gastrula ou de souche diapausante (200 × 300) aux stades post-neurula, ne synthétisent aucune protéine de choc thermique à 5 °C ou lors de leur transfert à 25 °C. A 5 °C, on observe une diminution globale des synthèses, il n'y a pas synthèse prépondérante de P70.

En conclusion, nous retiendrons que la protéine P61 "Diapause Arrest Associated Protein" pourrait intervenir dans le blocage de toute nouvelle transcription lors de l'arrêt de l'embryogenèse en gastrula. Il apparaît que les protéines de la famille des hsp70 jouent un rôle prépondérant durant la diapause embryonnaire du ver à soie. La synthèse relative de P70 est largement prépondérante durant la phase de diapause profonde pendant laquelle les protéines de stress ne peuvent être induites (Fig. 5I).

L'embryogenèse ne peut être réinitiée qu'après synthèse à 5 °C de protéines de la famille des hsp70, la réactivation ne pouvant être, malgré cette observation, assimilée à un stress par le froid tel que celui décrit par Burton et coll. (1988) chez la drosophile.

4. Anomalies morphologiques observées après choc thermique durant la diapause ou maintient à 5 °C.

Des embryons juste bloqués en diapause (10 jours de développement à 25 °C stressés par choc thermique (hs)+ HCl 4N ne se développent pas à cette température ; ces embryons sont réactivés 120 jours à 5 °C puis incubés à 25 °C. Au moment présumé de l'éclosion, on observe des anomalies morphogénétiques de l'embryon, chez plus de 60 % d'entre eux, du type de celles représentées Fig. 6. Nous avons montré (Coulon, 1967) que des embryons maintenus à 5 °C au-delà de 300 jours présentaient, après incubation, des anomalies morphologiques de mêmes phénotypes.

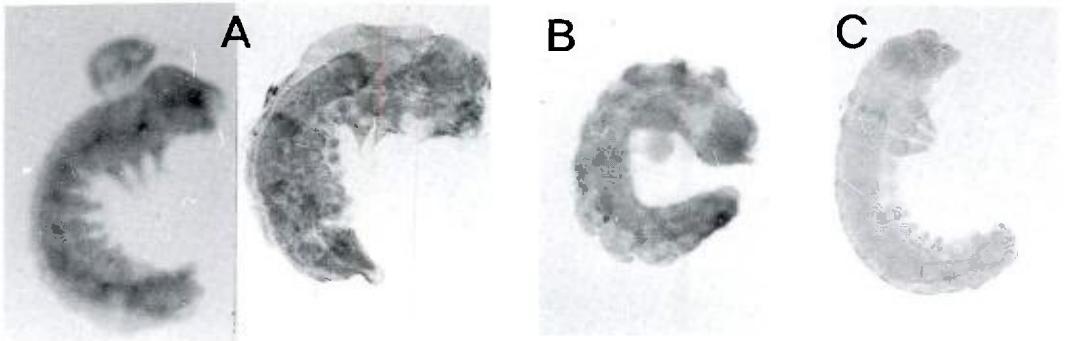


Fig. 6 : Anomalies morphogénétiques d'embryons observées après traitements.

A : HCl 4N + hs juste après initiation de la diapause, les oeufs sont réactivés à 5 °C avant l'incubation ; B : les oeufs sont maintenus 300 jours à 5 °C avant incubation ; C : embryons témoins.

Fig. 6 : Morphogenetical abnormalities in the embryos observed after the treatments.

A : 4N HCl + hs just after diapause initiation ; the eggs were reactivated at 5 °C before incubation ; B : the eggs were kept at 5 °C for 300 days before incubation ; C : control embryos.

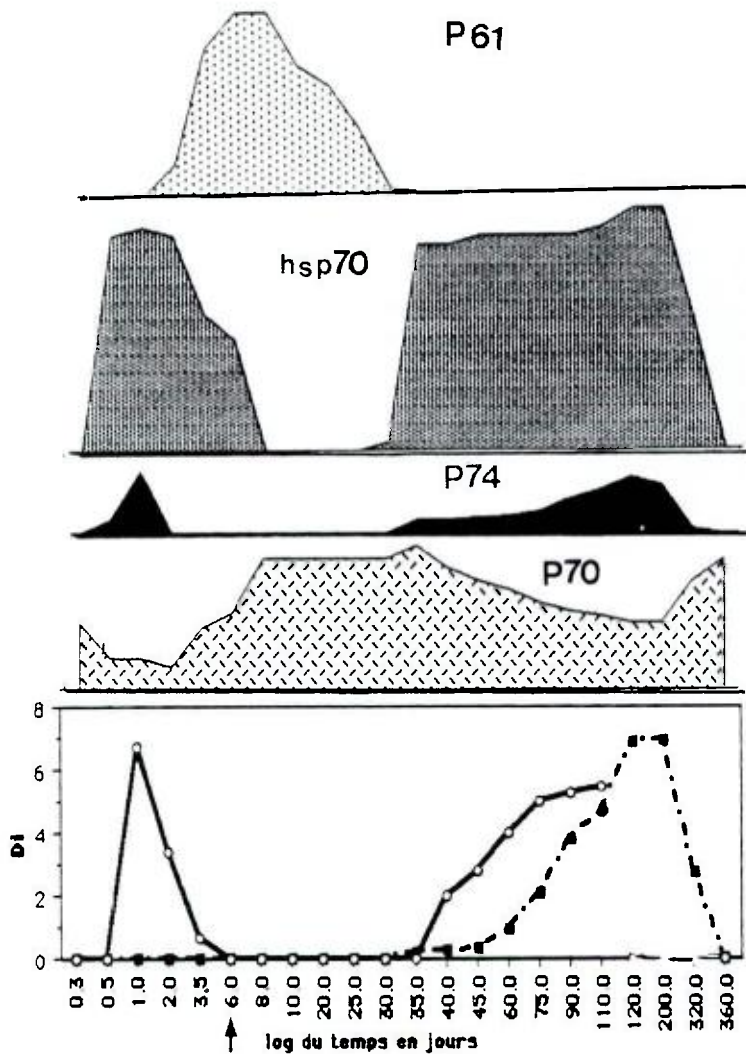


Fig. 7 : Variations du taux de synthèse des protéines de la famille hsp70 et P61 et de l'indice de développement en fonction du temps et du traitement HCl 4N + hs.

○—○ Développement après traitement HCl + hs
 — — ■ Développement sans traitement
 → Début de réactivation à 5 °C.

Les oeufs sont mis en incubation aux moments indiqués en abscisse avec ou sans traitement HCl + hs.

Fig. 7 : Variations in the rate of synthesis of hsp70 family and P61 proteins P61 and of the developmental index in function of the time and of the 4N HCL + hs treatment.

○—○ Development after HCl + hs treatment
 — — ■ Treatment-free development
 → Onset of reactivation at 5 °C.

The eggs were incubated at the times indicated on the x-axis with or without HCl + hs treatment.

Nous montrons ci-dessus qu'il n'y a qu'une très faible synthèse des protéines hsp70 dans le premier cas ; les patterns protéiques des embryons après 300 jours à 5 °C révèlent une diminution globale des synthèses, la synthèse de P70 est augmentée et devient largement majoritaire, la synthèse de P70-74 n'est plus détectée à 5 °C ; après un choc thermique, la synthèse des protéines hsp70 n'a pas été détectée (données non publiées).

Des conclusions directes ne peuvent être tirées de ces observations, cependant elles tendent à suggérer un rôle important des protéines de la famille des hsp70 dans la régulation soit des taux de mitoses soit de l'expression des gènes du développement à la reprise de l'embryogenèse.

CONCLUSIONS

Les trois phases de réponse au choc thermique mises en évidence par l'étude des patterns protéiques peuvent être également caractérisées par l'étude des effets des radiations ionisantes - travaux de Teulade (1968) et de Coulon (1966, 1967) - et par l'étude de la réponse des embryons à divers traitements. Le traitement associant un choc thermique à l'action de l'acide chlorhydrique est pratiqué de manière courante afin soit de prévenir l'installation de la diapause soit de permettre une reprise plus rapide et synchrone de l'embryogenèse après une réactivation brève de 40 jours à 5 °C. Nous montrons Fig. 7 les corrélations entre les synthèses des protéines de la famille des hsp70, de P61 et l'indice de développement des embryons (Di), cet indice prenant en compte le pourcentage d'éclosion en fonction du temps de développement (Coulon-Bublex et coll., 1991). Nous observons que le développement est optimum lorsque le taux de synthèse des protéines hsp70 est élevé soit naturellement soit après un stress. Chez l'embryon non-diapausant, les protéines P74 sont synthétisées au stade écusson embryonnaire, la protéine P61 n'est pas synthétisée au stade gastrula lorsque l'embryogenèse est continue (embryon non-diapausant ou après traitement HCL+choc thermique (Coulon-Bublex et coll., 1991). Nous avons montré par ailleurs que les ARN messagers des protéines P74 étaient transcrits à partir du génome embryonnaire et pouvaient être considérés parmi les premiers transcrits (Dorel et coll., 1988). Il apparaît ici que la réinitiation de l'embryogenèse ne peut avoir lieu qu'après transcription et traduction de ces mêmes messagers dont nous montrons qu'ils sont apparentés aux gènes des protéines de stress hsp70 de drosophile. De plus, nous montrons qu'une protéine P70, qui présente les caractéristiques de hsc70, protéine apparentée aux hsp70 de drosophile (Palter et coll., 1986) est synthétisée de manière préférentielle lorsque l'induction des protéines de stress est bloquée et pourrait donc jouer un rôle primordial, comme les auteurs commencent à le supposer pour d'autres organismes, pendant le développement normal. De plus, il semble exister une corrélation entre des modifications des taux de synthèse des protéines de la famille des hsp70 et des anomalies morphogénétiques susceptibles d'être en relation avec un dysfonctionnement des gènes du développement, comme cela a été également montré chez la drosophile (Cf. revue de Petersen et coll., 1985).

La résistance totale de l'embryon en diapause à tous les stress (entre l'initiation et 35 jours de réactivation à 5 °C) ne résulterait pas de la synthèse de protéines de stress, mais d'un blocage de la transcription. L'ensemble des résultats acquis à ce jour suggèrent que la protéine P61 jouerait le rôle majeur dans ce processus.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement l'Unité nationale séricicole de Lyon qui nous a apporté son aide en nous fournissant l'ensemble des pupes nécessaires à notre expérimentation.

La souche contenant le gène hsp70 de *Drosophila* nous a été donnée par le Dr Mirault de l'Université de Genève.

L'analyse densitométrique par scanner (programme Gemini Joyce) a été effectuée au Centre de Microscopie appliquée à la Biologie de l'Université de Dijon. Dominique Guillet a réalisé l'ensemble des gels bidimensionnels.

REFERENCES

- BERGH S., ARKING R. (1984), Developmental profile of the heat-shock response in early embryos of *Drosophila*. J. Exp. Zool., 231, 279-391.
- BOND U., SCHLESINGER M.J. (1987), Heat shock proteins and development. Adv. in Genet., 24, 1-29.
- BURTON V., MITCHELL H.K., YOUNG P., PETERSEN N.S. (1988), Heat shock protection against cold stress of *Drosophila melanogaster*. Molec. Cell Biol., 8, 3550-3552.
- COULON M. (1966), Etude du spectre d'anomalies consécutives au vieillissement et à des irradiations X chez l'embryon de *Bombyx mori*. Thèse Lyon N° 187.
- COULON M. (1967), Variations du spectre d'anomalies consécutives à une irradiation X chez l'embryon de *Bombyx mori* en fonction de l'hivernation préalable. C. R. Acad. Sc. Paris, 263, 1153-1155.
- COULON M. (1984), La diapause embryonnaire de *Bombyx mori*. Modèle pour une étude de la diapause. Ann. Biol., 23, 271-290.
- COULON M. (1988), Comparative changes of ecdysteroid content in *Bombyx mori* egg in diapausing and non-diapausing development. Comp. Biochem. Physiol., 89A, 503-509.
- COULON-BUBLEX M., DOREL C. (1991), The arrest of embryogenesis at gastrula stage in diapausing silkworm *Bombyx mori* is related to the synthesis of protein P61. Roux's Arch. Dev. Biol., in press.
- CRAIG E.A., INGOLIA T.D., MANSEAU L. (1983), Expression of *Drosophila* heat-shock cognate genes during heat-shock and development. Dev. Biol., 99, 418-426.
- CRAIG E.A. (1985), The heat-shock response. C. R. C. Crit. Rev. Biochem., 18, 239-280.
- DOREL C. (1986), Etude de l'expression génique au niveau de la traduction au cours de l'embryogenèse et de la diapause de *Bombyx mori*. Thèse Université de Lyon.
- DOREL C., COULON-BUBLEX M. (1988), Regulation of gene expression in prediapausing embryogenesis. Cell Differ., 23, 87-92.
- DURA J.M. (1981), Hsp synthesis is induced only after treatment at blastoderm and later stages in development. Mol. Gen. Genet., 184, 73-79.
- LINQUIST S. (1980), Translational efficiency of heat induced messages in *Drosophila melanogaster* cells. J. Mol. Biol., 137, 151-158.
- LINQUIST S. (1986), The heat shock response. Ann. Rev. Biochem., 55, 1151-1191.
- LINQUIST S., CRAIG E.A. (1988), The heat shock proteins. Ann. Rev. Genet., 22, 631-677.
- MICHAÏLLE J.-J., GAREL A., PRUDHOMME J.-C. (1990), Expression des gènes Ser1 et Ser2 dans le réservoir de la glande séricigène de *Bombyx mori* au cours du cinquième stade larvaire. Sericologia, 30, 61-66.
- MORAN L., MIRAULT M.E., TISSIERES A., LIS J., SCHEDL P., ARTAVANIS-TSAKONAS S., GERHING W.J. (1979), Physical map of 2 *Drosophila melanogaster* DNA segments containing sequences coding for the 70000 Dalton hsp. Cell, 17, 1-8.
- NOVER L., HELLMUND D., NEUMANN D., SCHARF K.D., SERFLIN E. (1984), The heat-shock response of eucaryotic cells. Bil. Zentrabl., 103, 357-435.
- O'FARREL P.H. (1975), High resolution 2D electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem., 250, 4007-4021.
- PALTER K.B., WATANABE M., STINSON L., MAHOWALD A.P., CRAIG E.A. (1986), Expression and localization of *Drosophila melanogaster* hsp 70 cognate proteins. Mol. Cell. Biol., 6, 1187-1203.
- PETERSEN N.S., MITCHELL H.K. (1985), Heat shock proteins. In Comprehensive Insect Physiology and Pharmacology, 10, 347-366, Kerkut and Gilbert Ed. Pergamon Press Ltd.
- STORTI R.V., SCOTT M.P., RICH A., PARDUE M.L. (1980), Translational control of protein synthesis in response to heat shock in *D. melanogaster* cells. Cell, 22, 825-834.
- TEULADE P. (1968), Etude expérimentale et théorique de la radiosensibilité de l'embryon de ver à soie (*Bombyx mori*). Thèse Lyon N° 514.

VARIATIONS IN THE RATES OF SYNTHESIS OF HEAT SHOCK PROTEINS, HSP70, BETWEEN LAYING AND NEURULA IN THE DIAPAUSING EMBRYO OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

M. COULON-BUBLEX* & J MATHELIN**

* Centre de Génétique moléculaire et cellulaire, UMR 106 CNRS, Université Claude Bernard Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

** Laboratoire de Cytologie et Physiologie des Arthropodes, URA 674 CNRS, Université de Dijon, 6, boulevard Gabriel, F-21000 Dijon, France.

A quantitative analysis of bidimensional electrophoresis fluorographies (2D) of the proteins synthesized by the embryo of Bombyx mori was carried out. Stress proteins hsp70 were synthesized after heat shock and/or acid treatment during embryogenesis except for two unaffected phases, the pre-blastodermic stages and deep diapause. The synthesis of hsp70 could be induced again immediately the end of the reactivation phase at 5 °C (i.e. 35 days at 5°). One protein P70 having the characteristics of an hsc70, a protein related to hsp70s, was predominantly synthesized during deep diapause. Bombyx messenger RNAs hybridized with the DNA of Drosophila hsp70 gene.

Keywords : *Bombyx mori*, embryo, diapause, hsp70 family proteins, RNA, densitometer analysis.

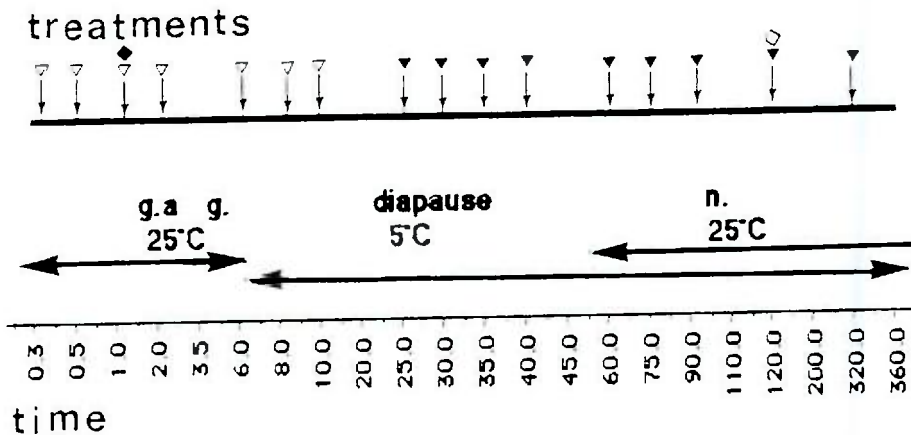
INTRODUCTION

All the various organisms - from bacterium to man - respond to a given stress with the synthesis of a set of proteins : stress proteins or heat shock proteins (hsp) (cf. the reviews of Nover *et al.*, 1984 ; Craig, 1985 ; Linquist, 1986 ; Bond *et al.*, 1987). Three groups of hsp proteins were described and determined according to their molecular weight : hsp 84 (in insects), hsp 90 (vertebrates) and hsp70 (small proteins having a PM of 20 to 30 kDa). The hsp70 protein group encoding genes are highly maintained from bacterium to man (> 80 % homology). However, the authors described unaffected phases during which hsp70s cannot be induced after a heat shock. During these phases, organisms are thermosensitive, as, for instance, during embryogenesis pre-blastodermic stages in *Drosophila* (Dura, 1981). In addition, some proteins known as 'heat shock cognate' proteins (hsc) are synthesized during the development, their synthesis being regulated spatiotemporally. These proteins are encoded by genes related to heat shock genes (Linquist *et al.*, 1986). hsc70 genes were sequenced, these show strong homologies with hsp70 genes (Palter *et al.*, 1986 ; Linquist *et al.*, 1988). We showed that HCl + hs treatment induced a synthesis of hsp70 proteins in the embryo of the silkworm (Dorel *et al.*, 1988 ; Coulon-Bublex *et al.*, 1991). This treatment prevents diapause when it is carried out between 18 and 100-110 hours after laying (at 25 °C), i.e. before the initiation of diapause (Coulon, 1988). We demonstrated that the diapausing embryo synthesized a protein called 'Diapause Arrest Associated Protein' after 48 hours of development (gastrula stage), this synthesis continues during the deep diapause at 25 °C and into the first 30 days after chilling the eggs, a phase called reactivation phase (Dorel, 1986 ; Coulon-Bublex, 1991). At this stage, the synthesis of hsp70 proteins and the resumption of embryogenesis can be induced by HCl + hs treatment. In this paper we present the quantitative

analysis of bi-dimensional electrophoresis fluorographies of the proteins synthesized by the embryo of the silkworm during early embryogenesis, diapause and the early stage of the resumption of post-diapause development at normal temperature or after heat shock. Hence, we will answer the following question : is the impossibility to induce either a continuous development (from 110 hours of development) either the resumption of the embryogenesis (before 35-40 days at 5 °C) correlated to an absence of protein hsp70 synthesis ?

MATERIALS AND METHODS

The pupae were obtained from the rearings of the 'Unité nationale séricicole' of Lyon. After moth emergence, the hybrid eggs of the European breeds 200 and 300 were collected at 25 °C every hour so as to synchronize embryogenesis. They were incubated at 25 °C for 5, 10 or 25 days, then placed at a monitored temperature of 5 °C. The following treatments were applied at various stages of the development : 4N HCl acid shock + heat shock at 46 °C for 7 min., 6N HCl acid shock at 25 °C for 60 min., heat shock at 37 °C for 6 hr (see graph below). The embryos were isolated from the vitellus under binocular lenses and incubated with 35S methionine for 6 hr (20 µCi in 50 µl normal saline NaCl 0.1 M solution).



Treatments :

- ▽ HCl + hs.
- ▼ hs 37 °C.
- ◆ HCl 6N 25 °C.
- ◇ Cold shock.

g.a. : germ-anlage.

g. : gastrula.

n. : neurula.

The proteins were extracted and subjected to an electrophoresis (IEF then SDS) as per the procedure described by O'Farrell (1975) and modified by Dorel *et al.* (1988). It should be noted that the electrophoresis was carried out at a constant temperature of 20 °C and simultaneously for 8 gels (SEBIA refrigerated plates), the gels were then treated in a rigourously constant manner so as to allow a reliable interpretation of the data obtained by scanner densitometer analysis.

Proteins were stabilized by acetic acid-alcohol mixture, gels were hydrated and soaked in sodium salicylate (Dorel *et al.*, 1988). Impregnated dried gels were exposed to Kodak X-Omat AR5 film at -80 °C : 2D fluorography revealed labelling proteins. The various 2D fluorographies were compared with a reference fluorography using Gemini programme (Joyce Loeb Ltd., 1988). The spots were

characterized by their orthogonal coordinates, the analyser matched the homologous spots. After analysing some gels exhaustively, the analysis was confined to a portion of gel corresponding to the maximum density of spots under our experimental conditions, viz. : Pi comprised between 6.5 and 5.4, the MW ranging between 100 kDa and 20 kDa. A detection threshold was fixed by the analyser so as to eliminate the background. The relative synthesis for a given spot (relative synthesis %) was calculated in relation to the sum of syntheses of a defined number of spots constituting the majority of syntheses for a set of stages.

RNAs were extracted from 500 mg or 1,000 mg of eggs at the suited stages or 30 min. after the heat shock and treated according to the method described by Michaille (1990) ; *in vitro* translations were carried out according the method described by Coulon-Bublex *et al.* (1991). The dot blots deposits, labelled probes and hybridizations were carried out according to the procedure described by Michaille (1990). Probe 132E3, which contained hsp70 gene of *Drosophila* (Moran *et al.*, 1979), was provided by Dr Mirault.

RESULTS AND DISCUSSION

1. *Bombyx* heat shock proteins hsp70.

Heat shocks for 7 min. at 46 °C or 6 hr at 37 °C induce the synthesis of proteins with MW 70-74 and pI 5.85-5.95 (Coulon-Bublex *et al.*, 1991). In *Bombyx* the protein patterns (Fig. 1) show that these proteins for each modality of treatment have the same electrophoretic mobility as *Drosophila* stress proteins hsp70 induced by a 3 hr heat shock of the ovaries at 37 °C (compare Fig. 1b and 1c). Protein P70 (70 kDa, pI 5.65) comigrated with a protein of the hsp70 family : *Drosophila* hsc70 (Palter *et al.*, 1986). At germ-anlage stage, we showed the synthesis of proteins having the same electrophoretic mobility as hsp70s (Dorel *et al.*, 1988) (Fig. 1a).

A comparative estimate of the intensity of synthesis of the various proteins observed by 2D fluorography could be obtained using densitometer analysis and scanner-matching of spots, an example of these analyses is given in Fig. 2. We observed that spots no. 20 and 21, proteins P72 and P74, were matched with the spots corresponding to hsp70s (P70-74, Fig. 2c and Coulon-Bublex *et al.*, 1991). At the selected level of sensitivity a large number of spots detected at 25 °C could no longer be detected after the heat shock. However, when the stress was short (7 min. at 46 °C), synthesis repression was less intense than for a long stress (6 hr at 37 °C) (Dorel, 1986 and unpublished). The relative rate of synthesis was determined in relation to the intensity of synthesis of 61 spots representing 75 % of the total detected synthesis (cf. methods), the data obtained for germ-anlage and gastrula stages are presented in Table I. The rate of synthesis of P70 was increased by 3.5-4 for a stress at 46 °C, the rate of synthesis of P70-74 (first P72 + P74, second hsp70) was multiplied by 10 as compared to the rate observed at germ-anlage stage and by 40 as compared to the basic level (as observed in blastoderm and gastrula stages).

The total RNAs extracted from the eggs were hybridized with probe 132E3 (Moran *et al.*, 1979) which contained protein hsp70 encoding genes of *Drosophila*. The dots blots in Fig. 1B show that, even under highly stringent conditions, these RNAs and DNAs hybridized irrespective of the embryonic stage, the intensity of the signal varied, the increase factor was 4 between pre-blastoderm (8 hr) and germ-anlage stages (Fig. B3 and B2), then it decreased in the early gastrula stage to come back to the initial level (Fig. B4). The intensity of the hybridization signal at germ-anlage stage was four-fold enhanced and in other stages was eight-fold increased by the heat shock treatment.

The total RNAs extracted from the eggs were translated *in vitro* in a cell-free system. Fig. 3 shows that the translatable mRNAs into hsp70 proteins were not observed after heat shock of the embryos at pre-blastoderm stage (5 hr, Fig. 3b), the synthesis of hsp70 being greatly increased during a stress at germ-anlage stage (24 hr, Fig. 3c).

24-hr-old embryos were treated in 6N HCl at 25 °C, the RNAs extracted from these eggs could be translated *in vitro*, an increase in the synthesis of proteins hsp70 could then be observed (Fig. 3d). A treatment with other chemicals such as arsenite induced a synthesis of hsp70 proteins (Dorel, 1986).

In conclusion, we showed that in the silkworm, *Bombyx mori*, stress proteins hsp70 were synthesized further to a heat shock or some other stresses such as a 6N HCl or an arsenite treatment (Nover *et al.*, 1984). The induction of hsp70s could not be observed during the phase of syncytial

mitoses before the formation of the blastoderm between 0 hr and 6 hr of development, as was described in *Drosophila* (Dura, 1981 ; Bergh *et al.*, 1984). A protein P70 having the same electrophoretic mobility as *Drosophila* hsc70 is synthesized throughout the development in either insect (Palter *et al.*, 1986 ; Coulon-Bublex *et al.*, submitted). In *Drosophila* the hsc70 encoding gene shows 82 % homology with the hsp70 encoding gene (Craig *et al.*, 1983 ; Palter *et al.*, 1986), a gene with which the RNAs extracted from silkworm embryos hybridized. The low signal recorded in all the stages of development tested could correspond to the occurrence of P70 mRNAs. The *in vitro* translations of embryo RNAs extracted after the heat shock showed that the messengers of the proteins synthesized before the stress were still present and translatable in a cell-free system, which is in agreement with the results obtained in *Drosophila*, in which the mRNAs of stress proteins are translated *in vivo* preferentially (Storti *et al.*, 1980 ; Linquist, 1980).

These observations enable the differences between increases in hybridization signals, on the one hand, and in the rates of relative synthesis, on the other hand, to be explained. Lastly, these data as a whole tend to show that P74, P70 and P70-74 belong to the family of hsp70 proteins.

2. Densitometer analysis of protein patterns at blastoderm, germ-anlage, gastrula and neurula stages.

The study was carried out by comparing 2D fluorographies to the germ-anlage stage reference gel, the spots of which were numbered (Fig. 2a). Three groups of proteins were observed.

1- Proteins that were synthesized at every stage, their synthesis rate varying little depending on the stages, for instance no. 1, 4, 7, 3, 9, 10, 11, 13, 18, 23, 28, 32, 33, 35, 58. The rate of synthesis of some of the proteins of this group could be very high as in the case of spots no. 19 (P70), no. 8 (actins) and no. 14 (tubulins).

2- Proteins that were synthesized at a very high rate in one or two of the stages studied and whose synthesis could scarcely be detected in the other stages. Two examples are given : P53 (no. 12) for which a relative synthesis rate of 10 % at germ-anlage stage dropped to 1-2 % in the other stages ; protein P52 (no. 29) showed an increase in its relative synthesis rate from less than 1 % to 5 % at gastrula stage, reaching 17 % at neurula stage. Protein hsp84 (no. 22) was more intensely synthesized in the early embryogenesis.

3- The third group comprised stage-specific proteins, at blastoderm and early germ-anlage stages of small hsp proteins (no. 2, 41, 60) were synthesized (Coulon-Bublex *et al.*, submitted), proteins p74 (no. 20-21) were specific of germ-anlage stage (Dorel *et al.*, 1988), and P61 (no. 61) was specific of diapausing gastrula stage (Coulon-Bublex *et al.*, 1991).

These proteins studied during the embryogenesis phase were followed throughout the diapause period.

3. Protein syntheses during diapause.

Several phases could be distinguished during the embryonic diapause of the silkworm (cf. Coulon, 1984). Embryogenesis arrested at gastrula stage, some changes of the protein patterns could be observed, we described three phases (Dorel, 1986 ; Coulon-Bublex *et al.*, 1991). The results are reported below.

- Initiation phase (from 72 hr to 110-120 hr), the protein pattern corresponded to that of the gastrula stage in the non diapausing embryos, one specific protein P61 was synthesized (Diapause Arrest Associated Protein), spot no. 61. This phase was also marked by an ecdyson peak specific to the diapausing egg (Coulon, 1988).

- The deep diapause corresponded to the arrest of embryogenesis at 25 °C which could vary in time from 0 day to several months (estivation). During this phase the synthesis of proteins was depressed, only the syntheses of P61 and P70 could be detected on the protein patterns. *In vitro* translatable RNA represented a larger number of species, their synthesis rate being very low except for P70 and P61 (Dorel *et al.*, 1986).

- During the reactivation phase at 5 °C, the synthesis of P61 was decreased and was null after 35 days at 5 °C, the synthesis of P74 then becoming detectable (Coulon-Bublex *et al.*, 1991).

The response of the embryos to the stress during each of these three phases was different. The initiation phase and the late reactivation are sensitive phases, whereas deep diapause is a

stress-resistant phase (Teulade, 1968 ; Coulon, 1966 et 1967). The analysis of the protein patterns after heat shock and acid shock enabled the characteristics of each of these phases to be determined.

In order to carry out an objective quantitative analysis we had to select 13 spots corresponding to the proteins common to all the diapause stages studied (except, however, for deep diapause) on the reference 2D fluorography, these spots represented 99 % of the syntheses detected at 35 days of reactivation at 5 °C (Fig. 4a), but only 68 % and 78 % of the syntheses at 120 days at 5 °C and at the resumption of embryogenesis at 25 °C and very few numbers of the major spots in the pre-diapause stages : germ-anlage and gastrula (34 % and 32 %, respectively).

In the 90 hr or 140 hr embryos, a decrease in the relative synthesis rate of hsp70 could be observed after a stress (as compared to the sum of the 13 spots), spots no. 21 and no. 22 (compare Fig. 5B, 5C and 5D). It was observed that although the rate of synthesis of P61 decreased during the stress (spot no. 61) it remained above 20 %. At 140 hr the rate of synthesis of P61 (25 %) made up for the loss of synthesis recorded for hsp70 (50 % at 48 hr, 25 % at 140 hr). During the deep diapause phase the synthesis of stress proteins was not induced, *in vitro* no translatable mRNA was transcribed (Fig. 3e) ; inversely an intense synthesis of proteins P61 and P70 was detected. The intensity of the signal obtained by hybridizing the mRNAs deposited in dot-blot with the probe containing hsp70 gene was two fold enhanced for the RNAs extracted from the eggs stressed at 120 hr (Fig. 1B5) and remained at the initial level for those treated at 10 days at 25 °C.

The reactivation phase at 5 °C was characterized by an absence of induction of hsp70 up to 30 days (occurrence of a synthesis of P61) and an increase of the synthesis of hsp70 (matched with spots no. 20-21, Fig. 4C) from 35 days of reactivation, namely when the proteins of hsp70 family started to synthesize at 5 °C (Fig. 5E and F, no. 21). The synthesis of hsp70 could not be observed during the resumption of the embryogenesis at 25 °C, but a heat shock induced this synthesis (Fig. 4d and 5G).

Could the synthesis at 5 °C of hsp70 family proteins be considered as a response to a stress or, as was observed at germ-anlage stage, be related to the processes of initiation of the embryonic genome (Dorel *et al.*, 1986) ? To answer this question we placed embryos in morphogenesis phase at 5 °C or 0 °C. These embryos of polyvoltine strain (Nistari) at gastrula stage, or embryos of diapausing strain (200 × 300) at post-gastrula stages did not synthesized any heat shock protein at 5 °C or during their transfer to 25 °C. At 5 °C an overall decrease in the syntheses could be observed, there was no preponderant hsp70 synthesis.

In conclusion, it can be retained that Diapause Arrest Associated Protein P61 could induce the lock-out of any new transcription during the arrest of embryogenesis at gastrula stage. It appeared that hsp70 family proteins play a major role during the embryonic diapause of the silkworm. The relative synthesis of P70 was greatly preponderant throughout the deep diapause phase, during which stress proteins could not be induced (Fig. 5I). Embryogenesis could be reinitiated only after 5 °C synthesis of hsp70 family proteins, as, in spite of this observation, reactivation could not be assimilated to a cold stress such as the one described by Burton *et al.* (1988) in *Drosophila*.

4. Morphological abnormalities observed after the heat shock during the diapause or preservation at 5 °C.

Embryos arrested at diapause stage (10 days of development at 25 °C) and subjected to heat shock stress (hs) + 4N HCl did not develop at this temperature. These embryos were reactivated for 120 days at 5 °C then incubated at 25 °C. At the expected time of hatching, more than 60 % of the embryos were observed to present embryonic morphogenetical abnormalities of the type in Fig. 6. We showed (Coulon, 1967) that the embryos kept at 5 °C after 300 days presented morphological abnormalities of the same phenotype after incubation. We have demonstrated above that there was a very small synthesis of hsp70 proteins in the first case. The embryonic protein patterns after 300 days at 5 °C showed an overall decrease in the syntheses, the synthesis of P70 was enhanced and became largely predominant, the synthesis of P70-74 was no longer detected at 5 °C. After a heat shock no synthesis of proteins hsp70 could be detected (unpublished data).

Direct conclusions cannot be drawn from these observations. However, they tend to imply a dominating role of hsp70 family proteins in the regulation of either the rate of mitoses or in the expression of developmental genes on resumption of embryogenesis.

CONCLUSIONS

The three phases of response to heat shock determined using protein patterns can also be characterized by studying the effect ionizing radiations (Teulade, 1968 ; Coulon, 1966, 1967) and by studying the response of embryos to various treatments. The treatment which combines a heat shock to the action of hydrochloric acid is commonly used for either preventing diapause from occurring or allowing a quicker and synchronous resumption of embryogenesis after a brief reactivation of 40 days at 5 °C.

We have shown (Fig. 7) the correlations between the synthesis of hsp70 family, P61 proteins and the embryonic developmental index (Di) which takes into account the hatching percentage in function of the duration of development (Coulon-Bublex *et al.*, 1991). We observed that the development was optimum when the rate of synthesis of proteins hsp70 was high either naturally or further to a stress. In the non diapausing embryo proteins P74 were synthesized at germ-anlage stage, protein P61 was not synthesized at gastrula stage when embryogenesis was continuous - non diapausing embryo or after HCl + heat shock treatment (Coulon-Bublex *et al.*, 1991). We also showed that messenger RNAs of P74 proteins were transcribed from the embryonic genome and could be considered as being among the first transcribed (Dorel *et al.*, 1988). From this study it appears that the reinitiation of embryogenesis can only take place after transcription and translation of these same messengers, for which we have shown that they were related to *Drosophila* hsp70 stress protein genes. Furthermore, we have shown that one protein, P70, which presents the characteristics of *Drosophila* hsc70 (Palter *et al.*, 1986) , a protein related to hsp70s, was preferentially synthesized when the induction of stress proteins is blocked and could therefore play a dominant role during the normal development, as the authors are led to suppose for other organisms. In addition, a correlation seems to exist between alterations of the rate of synthesis of hsp70 family proteins and morphogenetical abnormalities susceptible to be related to a dysfunction of the developmental genes, as was shown in *Drosophila* (cf. Peteren *et al.*, 1985).

The total resistance of the diapausing embryo to all types of stress (between initiation and 35 days of reactivation at 5 °C) may not result from the synthesis of stress proteins, but from an arrest of the transcription ; all the various results acquired to this date suggest that protein P61 could play a major role in this process.

A DIALLEL CROSS ANALYSIS OF THE COCOON WEIGHT IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

A. SARKAR*, N. K. DAS & B. C. DAS**

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742101, West Bengal, India.

A diallel analysis for cocoon weight in four varieties of the silkworm, Bombyx mori L., having a wide range of variability have been genetically analysed by means of 4 × 4 diallel cross. The results indicated that : (1) The character is controlled by an additive dominance system. The contribution of additive gene action to the genetic variance was relatively higher than that of the dominance. (2) The degree of dominance is partial. (3) The number of gene groups controlling the character is only one. (4) The positive and negative alleles of the gene are more or less equally distributed among the parents. (5) The heritability estimates are 0.99 and 0.84 in the broad and narrow senses respectively. (6) Four parents fall into two groups according to the relative level of dominance : High dominant (Kalimpong A and Kalimpong B) and highly recessive (Nistari and Nistid).

Keywords : Diallel cross, *Bombyx mori* L., heritability, cocoon weight.

INTRODUCTION

The usefulness of diallel cross techniques in the genetic analysis of populations has received considerable attention in recent years. The cocoon weight of silkworms is a most important character and is directly related with the production of silk. Univoltine and bivoltine races which show greater cocoon weight can not be reared in the plains of West Bengal throughout the year as they are susceptible to the hot and humid climate. Multivoltine silkworms are well adapted to the environmental conditions prevalent in tropical areas, but they produce cocoons of less weight. Studies were therefore undertaken to analyse the genetic basis of the cocoon weight in *Bombyx mori* L. This is a prerequisite for constructing some local hybrid types.

MATERIALS AND METHODS

The parents chosen for the study were four races of silkworm that are grown commercially in West Bengal. These were : (1) Kalimpong A (KA), a race which is bivoltine in character with plain larvae, white and oval shaped heavy cocoons ; (2) Kalimpong B (KB), a race bivoltine in character with marked larvae, white and dumb bell-shaped heavy cocoons ; (3) Nistari (N), multivoltine in character with deeply marked larvae, yellow and spindle-shaped light cocoons ; and (4) Nistid (N'), multivoltine in character with less prominently marked larvae, yellow and long spindle-shaped light cocoons.

* Intensive Sericulture Development Project, Central Silk Board, Krishnagar 742101, West Bengal, India.

** Former Director of Research, C.S.R. & T.I., Berhampore 742101, West Bengal, India.

These four races were crossed in all possible combinations of a complete diallel including reciprocals giving a total of 16 crosses. Eggs laid by bivoltine mother moths (KA and KB) were acid treated with HCl for breaking the diapause to facilitate hatching. The requisite number of laying from all 16 crosses were brushed separately. The larvae were fed four times a day with the fresh mulberry leaves of *Morus indica*.

After the fourth moult 200 larvae from each tray were counted and placed in two trays of 100 each which formed two replications. The experiment was conducted during January-February and March-April in two successive years. Calculations were made on the mean values of four rearings.

The statistical analysis was carried out according to the model proposed by Hayman (1954 a, b). The variance/covariance (V_r/W_r) graphical analysis was based on the method of Jinks (1954). The narrow and broad sense heritability values were estimated by the method suggested by Mather and Jinks (1971).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean values for different races of silkworm and their cross combinations in respect of their cocoon weight are presented in Table I.

Table I. Mean values for cocoon weight of parents (diagonal) and their crosses in 4×4 diallel cross of *Bombyx mori* L.

*Tableau I. Valeurs moyennes du poids des cocons des parents (diagonale) et leurs croisements dialléliques 4×4 chez *Bombyx mori* L.*

Parents Parents	KA (1)	KB (2)	N (3)	N' (4)
KA (1)	1.3625	1.4560	1.3010	1.2935
KB (2)	1.3620	1.3270	1.1980	1.2870
N (3)	1.2220	1.3180	0.7800	0.8500
N' (4)	1.2025	1.3080	0.8295	0.8985

The values are average of 2 replications in g.

Les valeurs correspondent aux moyennes de 2 réplicats et sont données en g.

The estimates of genetic and environmental components of variations, the various ratios computed by Hayman's methods (1954 a, b) and the narrow and broad sense heritabilities (Mather and Jinks, 1971) are given in Table II. The D component, measuring the additive genetic variation, was highly significant. The H_1 component, measuring the dominance variation, was also significant, but lower in magnitude than the D component. On the basis of an additive-dominance model, the additive genetic variation is about 2.35 times that of the dominance component. This indicates the possibility of selecting good cocoons for improved weight, as additive genetic variation is fixable (Mather and Jinks, 1971). The component of variation due to dominance correlated for gene distribution (H_2) was significant indicating asymmetrical distribution of dominant genes controlling this character. The overall dominance effect of heterozygous loci (h^2) was also significant, which indicates that the effect of dominance is due to heterozygosity.

Table II. Estimates of the components of variation and their standard errors for cocoon weight in 4×4 diallel cross of *Bombyx mori* L.

Tableau II. Evaluation des composants de variation et de leur écart type pour le poids du cocon après croisement diallélique 4×4 chez *Bombyx mori* L.

Components <i>Composants</i>	Estimates <i>Estimations</i>	S.E. <i>Ecart type</i>
Estimated values ($\times 10^{-4}$) / <i>Valeurs estimées</i> ($\times 10^{-4}$)		
D	867	± 21.5
F	-85	± 55.3
H ₁	372	± 62.6
H ₂	362	± 57.8
E	0.8	± 9.6
h ²	361	± 39.2
Proportion values / <i>Valeurs proportionnelles</i>		
(H ₁ /D) ^{1/2}	0.65	
(H ₂ /4H ₁)	0.24	
(4DH ₁) ^{1/2} + F/(4DH ₁) ^{1/2} - F	0.86	
h ² /H ₂	1.00	
Heritability / <i>Héritabilité</i>		
Broad / <i>Large</i>	0.99	
Narrow / <i>Etroite</i>	0.84	

The covariance of additive and dominance effect (F) was not significant which suggests that dominant and recessive alleles for cocoon weight are about equal in distribution. The F value being negative indicates that there was an excess of recessive alleles in the parents affecting the character.

The quantity $(H_1/D)^{1/2}$, which is a measure of the average degree of dominance at each locus, was 0.65 i.e. less than unity, which indicates partial dominance for cocoon weight.

The proportion of genes with positive and negative effects in the parental lines is $H_2/4H_1 = 0.24$ which is close to 0.25. This suggests an equal distribution of positive and negative alleles.

The ratio $(4DH_1)^{1/2} + F/(4DH_1)^{1/2} - F$, measuring the proportion of dominant and recessive genes in the parents was found to be 0.86. The ratio being less than unity suggests that recessive genes for cocoon weight are in excess among the parents. This result is in accordance with the result detected from F value of the character.

The ratio h^2/H_2 , which estimates the number of gene groups, indicated that the cocoon weight is under the control of one gene group.

Both broad and narrow sense heritabilities were found to be very high, 0.99 and 0.84 respectively.

The coefficient of correlation between the parental order of dominance ($W_r + V_r$) and parental measurement, V_r is given in Table III. The value of r was found to be negative and significant which suggests that dominance was unidirectional and parents with value of $W_r + V_r$ contain most dominant genes.

Table III. Estimates of the array variance (V_r), array parent offspring covariance (W_r) and correlation coefficient between parental order of dominance ($W_r + V_r$) and parental measurement (y_r), estimated from the totalled measurement over blocks for the cocoon weight in *Bombyx mori* L.

*Tableau III. Evaluation de la variance (V_r), de la covariance (W_r) des progénitures et du coefficient de corrélation entre l'ordre parental de dominance ($W_r + V_r$) et les mesures des parents (y_r) d'après la totalité des lots mesurés pour le poids du cocon chez *Bombyx mori* L.*

Array / Ordre	W_r	V_r	$W_r + V_r$	y_r
1	0.0215	0.0061	0.0276	1.3625
2	0.0164	0.0041	0.0205	1.3270
3	0.0770	0.0680	0.1450	0.7800
4	0.0688	0.0552	0.1241	0.8985
Total	0.1838	0.1335	0.3174	4.3680
r	-0.995			
r^2	0.990			

Table IV. Comparison of extreme parental means with those of the theoretically top dominant (YD) and bottom recessive (YR) parents.

Tableau IV. Comparaison des moyennes parentales extrêmes avec celles des parents théoriquement dominants (YD) et celles des parents récessifs inférieurs théoriques (YR).

Parent Parent	Observed mean Moyenne observée	Estimated mean Moyenne estimée
Kalimpong A	1.3625	-
YD	-	1.1422
Nistari	0.7800	-
YR	-	1.0338

The value of r^2 was found to be about 0.99 i.e. close to unity, indicating the usefulness of the estimation of the measurement of completely dominant and completely recessive parents (Table IV). The observed mean of the parent showing the heaviest cocoon weight was greater than the estimated mean for the theoretically top dominant parent, whereas the observed mean of the parent showing the

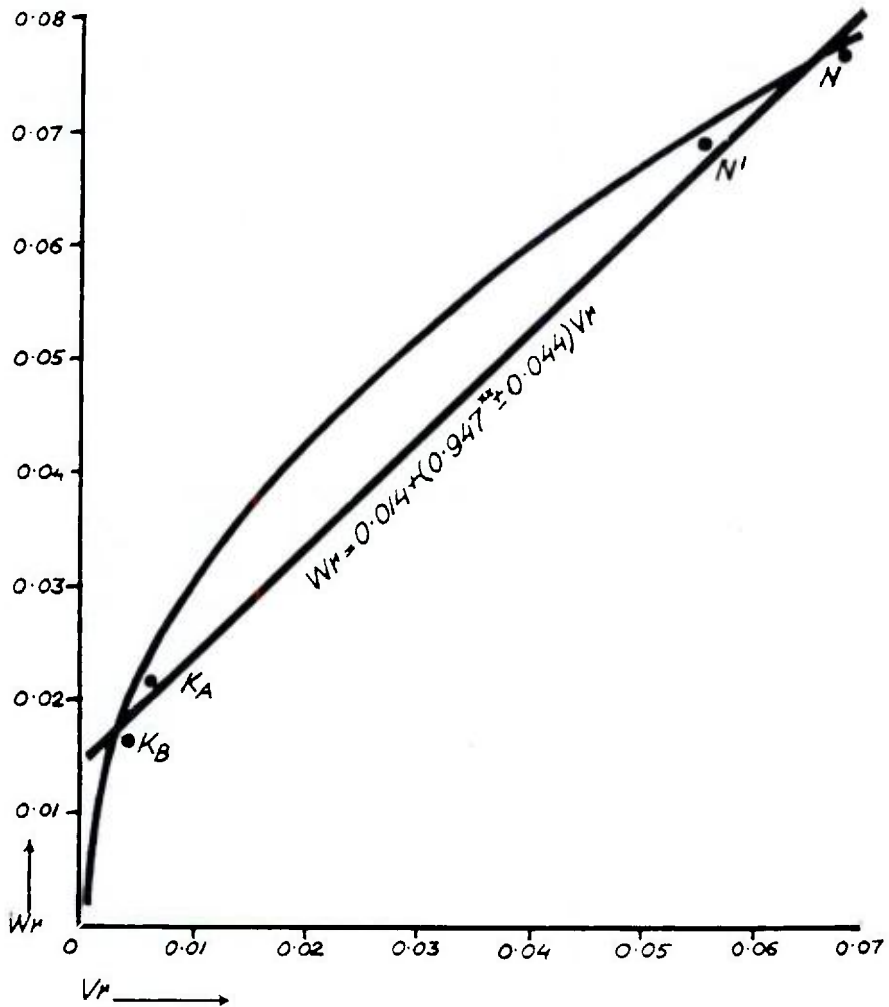


Fig. 1 : V_r - W_r graph for the cocoon weight in the silkworm, *Bombyx mori* L.

The dots represent the parental arrays : K_A (Kalimpong A), K_B (Kalimpong B), N (Nistari) and N' (Nistid). The straight line in $W_r = 0.014 + (0.947 \pm 0.044) V_r$.

Fig. 1 : Graphique V_r - W_r pour le poids du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

Les points représentent les rangs parentaux : K_A (Kalimpong A), K_B (Kalimpong B), N (Nistari) et N' (Nistid). La droite en $W_r = 0,014 + (0,947 \pm 0,044) V_r$.

smallest cocoon weight was less than the estimated mean for the theoretically bottom recessive parent. This confirms the existence of partial dominance.

The W_r - V_r graph (Fig. 1) shows that the regression line cuts the limiting parabola above the origin and lies close to it, indicating some partial dominance. The graphical analysis also shows that the regression coefficient (b value) of W_r on V_r do not differ significantly from unity, indicating the absence of genetic interaction. The parents, Nistari (N) and Nistid (N') behaved as the most recessive parents as evidenced from their position at the end of the line. On the contrary, parents, Kalimpong A (KA) and Kalimpong B (KB) with preponderance of dominant allele lie close to the origin.

The present study indicates that the cocoon weight in *Bombyx mori* L. is under the control of one gene group. Moreover, heritability estimates in both the broad and narrow senses were very high, indicating that the major part of the total phenotypic variability in this diallel cross is genetic. This result is an indication that the correspondence between genotype and phenotype is good. It is therefore expected that an effective selection would be possible for cocoon weight in segregating generation among the parents used.

REFERENCES

- HAYMAN B. I. (1954a), The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, 10, 235-244.
 HAYMAN B. I. (1954b), The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39, 789-809.
 JINKS J. L. (1954), The analysis of continuous variation in a diallel cross of *Nicotiana rustica* varieties. *Genetics*, 39, 767-788.
 MATHER K., JINKS J. L. (1971), *Biometrical Genetics*. 2nd edition, London, Chapman and Hall.

ANALYSE DE CROISEMENTS DIALLELIQUES POUR LE POIDS DU COCON CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

A. SARKAR*, N.K. DAS & B.C. DAS**

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742101, West Bengal, Inde.

On a procédé à une analyse diallélique portant sur le poids du cocon chez quatre variétés du ver à soie Bombyx mori L. à forte variabilité ; ces quatre variétés sont analysées génétiquement par croisement diallélique de 4 × 4. Les résultats démontrent les points suivants : (1) Ce caractère est gouverné par un système de dominance-additivité. La contribution de l'action des gènes additifs à la variance génétique est relativement plus élevée que celle des gènes dominants. (2) Le degré de dominance est partiel. (3) Le caractère est contrôlé par un seul groupe de gènes. (4) Les allèles positifs et négatifs des gènes sont plus ou moins également répartis parmi les parents. (5) Les estimations concernant l'hérédité sont de 0,99 au sens large et de 0,84 au sens strict. (6) Les quatre parents se répartissent dans deux groupes suivant le degré relatif de dominance : dominance élevée (Kalimpong A et Kalimpong B) et fortement récessif (Nistari et Nistid).

INTRODUCTION

Ces dernières années, on s'est beaucoup intéressé à l'utilité des techniques du croisement diallélique dans l'analyse génétique des populations. Le poids du cocon du ver à soie est un caractère tout à fait important auquel est directement liée la production de soie. Les races monovolines et bivoltines, qui présentent les poids de cocons les plus élevés, ne peuvent être utilisées dans les plaines au Bengale occidental sur une année entière car elles sont sensibles au climat chaud et humide. Les vers à soie polyvoltins sont bien adaptés aux conditions climatiques caractéristiques des régions tropicales mais ils produisent des cocons d'un poids plus faible. Des études ont donc été conduites pour analyser la base génétique du poids du cocon de *Bombyx mori* L. C'est une condition indispensable pour créer des souches hybrides locales.

MATERIELS ET METHODES

Les parents sélectionnés pour cette étude appartiennent à quatre races de vers à soie qui sont élevées commercialement dans le Bengale occidental. Celles-ci sont : (1) Kalimpong A (KA), souche bivoltine dont les larves sont de couleur uniforme et les cocons lourds, blancs et de forme ovale ; (2) Kalimpong B (KB), souche bivoltine dont les larves sont marquées et les cocons lourds, blancs et en forme d'haltère ; (3) Nistari (N), souche polyvoltine dont les larves sont fortement marquées et les cocons jaunes, légers et en forme de fuseau ; (4) Nistid (N'), souche polyvoltine dont les larves sont moins marquées et les cocons sont jaunes, légers et en forme de fuseau allongé.

* Intensive Sericulture Development Project, Central Silk Board, Krishnagar 742101, West Bengal, Inde.

** Ancien Directeur de Recherche. C.S.R. & T.I., Berhampore 742101, West Bengal, Inde.

Ces quatre races sont croisées suivant toutes les combinaisons dialléliques possibles y compris les croisements réciproques, ce qui donne un total de 16 croisements. Les oeufs pondus par les papillons femelles bivoltins (KA et KB) sont traités à l'HCl pour arrêter la diapause et faciliter l'éclosion. On lève séparément le nombre voulu de pontes à partir des 16 croisements. Les larves sont nourries quatre fois par jour avec des feuilles fraîches de *Morus indica*.

Après la quatrième mue, 200 larves de chaque litière sont séparées et placées dans deux litières de 100 larves chacune, formant deux réplicats. L'expérience est conduite pendant deux années consécutives en janvier-février et mars-avril. Les calculs sont établis à partir des moyennes des quatre élevages.

L'analyse statistique est faite suivant le modèle proposé par Hayman (1954a, b). L'analyse graphique de variance/covariance (V_r/W_r) est basée sur la méthode de Jinks (1954). Les valeurs de l'héritabilité au sens strict et au sens large sont évaluées suivant la méthode proposée par Mather et Jinks (1971).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs moyennes du poids du cocon chez les différentes races de ver à soie et chez leurs combinaisons sont présentées dans le tableau I.

L'évaluation des composants génétiques et environnementaux des variations, les différents rapports relevés suivant les méthodes de Hayman (1954a, b) et les héritabilités au sens strict et au sens large (Mather et Jinks, 1971) sont donnés dans le tableau II. Le composant D, qui mesure la variation génétique additive, est hautement significatif. Le composant H_1 , qui mesure la variation de dominance, est également significatif mais avec une plus faible amplitude que le composant D. Si l'on prend en compte un modèle de dominance-additivité, la variation génétique additive est environ 2,35 fois plus forte que celle du composant de dominance. Ceci indique qu'il est possible de sélectionner des cocons de bonne qualité quant à leur poids, la variation génétique additive pouvant être fixée (Mather et Jinks, 1971). Le composant de variation due à la dominance corrélée pour la répartition des gènes (H_2) est significative, ce qui indique une répartition asymétrique des gènes dominants gouvernant ce caractère. L'effet de dominance globale des locus hétérozygotes (h^2) est également significatif, ce qui indique que l'effet de dominance est provoqué par l'hétérozygotie.

La covariance de l'effet de dominance et additif (F) n'est pas significative, ce qui suggère que les allèles dominants et récessifs pour le poids du cocon sont répartis de manière à peu près égale. Le fait que la valeur F soit négative indique que les allèles récessifs affectant le caractère sont en surnombre chez les parents.

La quantité $(H_1/D)^{1/2}$, qui mesure le degré moyen de dominance à chaque locus, est de 0,65 c'est-à-dire moins de l'unité, ce qui indique une dominance partielle pour le poids du cocon.

La proportion de gènes à effet positif ou à effet négatif chez les lignées parentales est de $H_2/4H_1 = 0,24$, ce qui est proche de 0,25. Ceci suggère que les allèles positifs et négatifs sont répartis de manière égale.

On observe que le rapport $(4DH_1)^{1/2} + F/(4DH_1)^{1/2} - F$, mesurant la proportion de gènes dominants et récessifs chez les parents, est de 0,86. Le fait que ce rapport soit inférieur à l'unité suggère que les gènes récessifs pour le poids du cocon sont en surnombre parmi les parents. Ce résultat est conforme avec les données mises en évidence pour la valeur F du caractère étudié.

Le rapport h^2/H_2 , qui évalue le nombre de groupes de gènes, indique que le poids du cocon est gouverné par un seul groupe de gènes.

On remarque que l'héritabilité, tant au sens large qu'au sens strict, est très élevée : 0,99 et 0,84 respectivement.

Le coefficient de corrélation entre l'ordre de dominance parental ($W_r + V_r$) et les mesures parentales (V_r) est donné dans le tableau III. On observe que la valeur de r est négative et significative, ce qui suggère qu'il s'agit d'une dominance unidirectionnelle et que les parents ayant les valeurs les plus faibles contiennent plus de gènes.

On remarque que la valeur de r^2 est d'environ 0,99, c'est-à-dire proche de l'unité, ce qui indique l'utilité de l'évaluation des mesures des parents complètement dominants et des parents complètement récessifs (tableau IV).

La moyenne observée chez le parent présentant les cocons les plus lourds est plus élevée que la moyenne estimée pour le parent théoriquement le plus dominant, alors que la moyenne observée du parent présentant le poids du cocon le plus léger est plus faible que la moyenne du parent théoriquement le plus récessif. Ceci confirme l'existence d'une dominance partielle.

Le graphique W_r - V_r (Fig. 1) montre que la droite de régression coupe la parabole limite au-dessus de son origine sans s'en éloigner, ce qui indique une dominance partielle. L'analyse graphique montre également que le coefficient de régression (valeur b) de W_r sur V_r ne diffère pas de l'unité de manière significative, ce qui suggère qu'il n'y a pas d'interaction génétique. Les parents Nistari (N) et Nistid (N') ont le comportement parental le plus récessif, comme le montre leur position à la fin de la droite. A l'inverse, les parents Kalimpong A (KA) et Kalimpong B (KB) dont les allèles de dominance sont prépondérants se situent près de l'origine.

La présente étude indique que le poids du cocon chez *Bombyx mori* L. est sous le contrôle d'un seul groupe de gènes. De plus, les données estimées de l'héritabilité, tant au sens large qu'au sens strict, sont très élevées, ce qui indique que la majeure partie de la variabilité phénotypique totale dans ce croisement diallélique est génétique. Ce résultat implique que la correspondance entre le génotype et le phénotype est positive. On peut donc penser qu'une sélection effective est possible pour le poids du cocon si elle est effectuée au niveau de la génération parentale.

TOXICITY OF PARAAMINOBENZOIC ACID IN PURE MYSORE AND KALIMPONG-A RACES OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

I. K. PAI, S. N. HEGDE & N. B. KRISHNAMURTHY

Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore 570 006, India.

*The toxic effects of Paraaminobenzoic acid (PABA), a bacterial vitamin and growth regulator present in the artificial foods and tissue culture medium of insects, were studied in Pure Mysore and Kalimpong-A races of the silkworm, *Bombyx mori*. Three sublethal concentrations of PABA were administered by i) egg treatment method ii) oral administration method and iii) topical application at III and V instars. The LC₅₀ was estimated for all the treatments. Eight important toxicity parameters were analysed in all the treated groups. A significant reduction was observed in many of these fitness characters. In some instances, the reduction was proportionate with the concentration used, while in others it was impropportionate. On the basis of the results, it was concluded that, though minute quantities of PABA is essential in tissue culture and artificial foods, it is toxic at high concentrations.*

Keywords : Paraaminobenzoic acid (PABA), toxicity, silkworm *Bombyx mori* L.

INTRODUCTION

Paraaminobenzoic acid (PABA), a crystalline, colourless, monoclinic prismatic substance, occurs in Nature as a 'B' complex factor. It inhibits the bacteriostatic action of sulphonamide and forms a bridge between pteric and glutamic acid in the formation of folic acid. It is also considered as a bacterial vitamin. PABA is known to intensify the process of DNA repair (Rapoport *et al.*, 1980) and serves as an antimutagenic agent (Vasileva and Davnichenko, 1983). Further, the survey of literature shows that both the artificial food and tissue culture medium of the silkworms contain trace quantities of PABA (Tazima, 1978) as one of the growth regulators. However, many growth regulators are toxic (Pohl and Rother, 1953). Thus by considering the importance of PABA in the silkworm nutrition and the lack of any information on its toxicity, the present experiments were carried out using two races of the silkworm, *B. mori*, the results of which are presented in this paper.

MATERIALS AND METHODS

A multivoltine race, namely Pure Mysore (PM), and a bivoltine race, viz. Kalimpong-A (KA), maintained at the University of Mysore (Mysore 570 006, India) formed the material for the present investigations. LC₅₀ was estimated for different protocols. The lowest LC₅₀ of 800 ppm was observed for oral feeding. The chemical was administered by various methods such as i) oral administration of 50, 100 and 200 ppm of PABA from III instar to spinning stage, ii) treating the eggs of the silkworms with 50, 100 and 200 ppm of PABA for 30 minutes iii) topical application of PABA at III instar at concentrations of 250, 500 and 750 mg/100 worms and iv) topical application of PABA at V instar larval stage at concentrations of 1, 2 and 3 g/100 worms. The procedure described by Pai *et al.* (1986) was followed for chemical administration. Eight important toxicity parameters, viz. fecundity, larval duration, total number of cocoons harvested, total weight of cocoons harvested, yield by

number/10,000 larvae brushed, yield by weight/10,000 larvae brushed, number of larvae brushed and hatching percentage were analysed in the control and treated groups. All the experiments were conducted under standard laboratory conditions following the silkworm rearing methods described by Krishnaswami (1978). The results obtained were subjected to statistical analyses (Anova as described by Snedecor and Cochran, 1967) and are presented in tables I and II.

RESULTS

Table I shows that the groups of PM race of the silkworm, *B. mori*, treated orally with PABA showed a significant ($P < 0.05$) variation in six out of eight characters analysed. The total number of cocoons harvested was 62 in 50 ppm and 66 in 100 and 200 ppm concentrations against 96 in the control. ('F' value 7.26 at 0.05 level). The yield by number/10,000 larvae brushed was lowest in 50 ppm concentration, while the yield by weight/10,000 larvae brushed was lowest in 100 ppm concentration. Further, the fecundity and number of larvae brushed decreased proportionately with increased concentration.

When PM eggs were treated with different concentrations of PABA, the larval duration was prolonged from 581 hr in the control to 653 hr in 50 and 100 ppm and 643 hr in 200 ppm concentration ('F' value 15.74 at 0.05 level). The total number of cocoons harvested and yield by no./10,000 larvae brushed were highest in 100 ppm concentration. Fecundity was reduced significantly ($P < 0.05$) in all the concentrations.

In the groups of PM silkworms treated with topical application of PABA at III instar stage, the total number of cocoons harvested was reduced to 58 in 500 mg/100 worms concentration, was increased from 90 in the control to 96 in 250 mg/100 worms concentration. Similarly, yield by number and weight/10,000 larvae brushed, fecundity and number of larvae brushed also showed improvement in 250 mg/100 worms concentration, while with the higher concentrations of 500 mg and 750 mg/100 worms, all the above said characters recorded a reduction. Further, in 250 mg/100 worms concentration, hatching percentage was reduced, while it was increased in higher concentrations.

The group of PM race of the silkworms treated topically with PABA at V instar, showed a prolonged larval duration from 624 hr in control to 648 hr in all the concentrations. Though the total weight of cocoons and yield by weight/10,000 larvae brushed were increased in 1 g/100 worms concentration, yet in higher concentrations it was reduced. Fecundity, hatching percentage and number of larvae brushed were reduced in 2 g/100 worms and increased in 1 g and 3 g/100 worms concentrations.

Table II shows that oral administration of PABA to KA race induces prolongation of larval duration from 624 hr in the control to 643 hr in 200 ppm. The total number of cocoons harvested was higher in 100 ppm, while it was lower in the other two concentrations. Fecundity and number of larvae brushed showed a significant reduction with increased concentrations. However, the hatching percentage recorded a significant improvement in 100 ppm and reduction in the other two concentrations.

The groups of KA worms obtained by the egg treatment method showed a significant reduction in the total number of cocoons harvested, total weight of cocoons harvested and yield by number/10,000 larvae brushed in all the concentrations tested. However, yield by weight/10,000 larvae brushed showed insignificant improvement. Fecundity and number of larvae brushed were insignificantly higher in 200 ppm concentration. However, the hatching percentage was reduced significantly in a dose dependent manner.

The groups of KA race treated topically with PABA at III instar showed a significant prolongation of larval duration in all the three concentrations tested. The total number and weight of cocoons harvested, yield by number and weight/10,000 larvae brushed, fecundity, number of larvae brushed and hatching percentage showed a significant reduction in all the concentrations tested, but they were not dose dependent.

Table II also shows that the topical application of PABA to V instar larvae of KA race prolongs larval duration from 576 hr in the control to 605 hr in 2 and 3 g/100 worms concentrations. The total number and weight of cocoons harvested, yield by number and weight/10,000 larvae brushed, fecundity and number of larvae brushed were also reduced significantly in all the concentrations.

Table I. Effect of PABA on toxicity in the multivoltine Pure Mysore race.

Tableau I. Effet toxique de l'acide paraaminobenzoïque chez la race polyvoltine Pure Mysore.

Mode of administration	Concentration	Larval duration (hrs)	Total no. of cocoons harvested	Total wt. of cocoons harvested	Yield/10,000 larvae brushed		Fecundity	Number of larvae brushed	Hatching percentage
Mode d'administration	Concentration	Durée larvaire (hrs)	Nb. total de cocons récoltés	Poids total des cocons récoltés	Number Rendement pour 10 000 larves levées	Weight (kg)	Fécondité	Nombre de larves levées	Pourcentage d'éclosion
					Nombre	Poids (kg)			
Oral administration <i>Administration orale</i>	Control / <i>Témoin</i>	682	96	92.1	9600	9.216	396	379	95.70
	Conc. 1	687	62	60.8	6200	6.076	370	356	96.21
	Conc. 2	687	66	60.6	6600	6.006	324	317	97.84
	Conc. 3	691	66	62.0	6600	6.204	306	302	98.69
	'F' value / <i>Valeur F</i>	2.77	7.26*	9.63*	4.90*	14.46*	12.39*	9.06*	2.84
Egg treatment <i>Traitement des oeufs</i>	Control / <i>Témoin</i>	581	360	351.5	8571	8.374	492	460	97.48
	Conc. 1	653	402	406.5	9220	10.225	452	430	97.81
	Conc. 2	653	412	406.5	9279	9.557	490	444	95.13
	Conc. 3	643	326	333.5	8810	9.065	476	430	95.64
	'F' value / <i>Valeur F</i>	15.74*	6.14*	6.24*	8.45*	24.81*	4.51*	2.88	1.58
Topical application at III instar <i>Application topique au 3e âge</i>	Control / <i>Témoin</i>	624	90	85.4	9000	8.540	478	408	88.53
	Conc. 1	624	96	90.6	9600	9.060	499	432	86.57
	Conc. 2	624	58	58.8	5800	5.880	410	370	90.45
	Conc. 3	629	70	72.8	7000	7.280	451	426	94.45
	'F' value / <i>Valeur F</i>	2.02	12.79*	13.09*	16.17*	6.72*	2.02	1.05	9.61*

L K P M

Continued / Suite page suivante

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

Mode of administration	Concentration	Larval duration (hrs)	Total no. of cocoons harvested	Total wt. of cocoons harvested	Yield/10,000 larvae brushed		Fecundity	Number of larvae brushed	Hatching percentage
<i>Mode d'administration</i>	<i>Concentration</i>	<i>Durée larvaire (hrs)</i>	<i>Nb. total de cocons récoltés</i>	<i>Poids total des cocons récoltés</i>	<i>Number Rendement pour 10 000 larves levées</i>	<i>Weight (kg) Poids (kg)</i>	<i>Fécondité</i>	<i>Nombre de larves levées</i>	<i>Pourcentage d'éclosion</i>
					<i>Nombre</i>	<i>Poids (kg)</i>			
Topical application	Control / <i>Témoin</i>	624	90	85.5	9000	8.541	478	408	85.53
at V instar	Conc. 1	648	90	96.0	9000	9.645	498	433	86.94
	Conc. 2	648	74	76.4	7400	7.640	421	386	82.92
<i>Application topique</i>	Conc. 3	648	70	68.6	7000	6.860	516	460	89.72
<i>au 5e âge</i>									
'F' value / <i>Valeur F</i>		5.07*	13.51*	13.91*	8.46*	9.62*	5.15*	19.12*	5.45*

* Statistically significant by ANOVA. Table value : 4.07 at 0.05 level.

* *Statistiquement significatif après analyse de variance. Valeur de la table : 4,07 au seuil de 0,05.*

Table II. Effect of PABA on toxicity in bivoltine Kalimpong-A race.

Tableau II. Effet toxique de l'acide paraaminobenzoïque sur la race bivoltine Kalimpong-A.

Mode of administration	Concentration	Larval duration (hrs)	Total no. of cocoons harvested	Total wt. of cocoons harvested	Yield/10,000 larvae brushed		Fecundity	Number of larvae brushed	Hatching percentage
Mode d'administration	Concentration	Durée larvaire (hrs)	Nb. total de cocons récoltés	Poids total des cocons récoltés	Number Rendement pour 10 000 larves levées	Weight (kg) Poids (kg)	Fécondité	Nombre de larves levées	Pourcentage d'éclosion
					Nombre	Poids (kg)			
Oral administration <i>Administration orale</i>	Control / <i>Témoin</i>	624	88	157.5	8800	15.767	416	402	96.63
	Conc. 1	624	84	140.7	8400	14.070	376	352	93.62
	Conc. 2	633	92	174.8	9200	17.480	356	346	97.19
	Conc. 3	643	86	162.0	8600	16.254	338	320	94.67
	'F' value / <i>Valeur F</i>	23.36*	25.98*	22.05*	3.16	5.11*	8.36*	29.78*	1.12
Egg treatment <i>Traitement des oeufs</i>	Control / <i>Témoin</i>	600	373	578.5	8550	13.278	506	491	98.88
	Conc. 1	619	290	524.0	8529	15.386	501	486	98.56
	Conc. 2	619	303	478.0	8370	13.342	509	486	92.38
	Conc. 3	619	301	517.0	8478	14.408	589	528	91.68
	'F' value / <i>Valeur F</i>	1.44	13.26*	8.37*	6.93*	1.77	9.48*	11.96*	5.76*
Topical application at III instar <i>Application topique au 3e âge</i>	Control / <i>Témoin</i>	576	93	180.4	9300	18.420	537	510	95.50
	Conc. 1	605	66	120.4	6000	12.043	449	413	94.80
	Conc. 2	605	76	137.8	7600	13.779	515	423	82.14
	Conc. 3	605	68	142.4	6800	14.229	485	451	92.90
	'F' value / <i>Valeur F</i>	5.79*	15.85*	4.72*	16.69*	8.48*	8.61*	7.49*	4.26*

Continued / Suite page suivante

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

Mode of administration	Concentration	Larval duration (hrs)	Total no. of cocoons harvested	Total wt. of cocoons harvested	Yield/10,000 larvae brushed		Fecundity	Number of larvae brushed	Hatching percentage
<i>Mode d'administration</i>	<i>Concentration</i>	<i>Durée larvaire (hrs)</i>	<i>Nb. total de cocons récoltés</i>	<i>Poids total des cocons récoltés</i>	<i>Number Rendement pour 10 000 larves levées</i>	<i>Weight (kg)</i>	<i>Fécondité</i>	<i>Nombre de larves levées</i>	<i>Pourcentage d'éclosion</i>
					<i>Nombre</i>	<i>Poids (kg)</i>			
Topical Application at V instar	Control / <i>Témoin</i>	576	93	153.0	9300	15.221	537	510	95.50
	Conc. 1	600	60	105.3	6000	10.523	514	252	59.02
	Conc. 2	605	59	102.2	5900	10.220	462	384	83.11
<i>Application topique au 5e âge</i>	Conc. 3	605	67	99.4	6700	9.940	456	449	98.46
<i>'F' value / Valeur F</i>		28.30*	39.30*	48.27*	5.61*	6.67*	19.81*	8.05*	8.19*

* Statistically significant by ANOVA. Table value : 4.07 at 0.05 level.

* Statistiquement significatif après analyse de variance. Valeur de la table : 4,07 au seuil de 0,05.

DISCUSSION

Fecundity, hatchability, rate of development, viability, etc., are some of the important parameters to evaluate the toxicity of any chemical or physical agents in animal test systems (Luning, 1966 ; Sankaranarayanan, 1969 ; Gayathri and Krishnamurthy, 1979). These serve as good indicators of various somatic effects caused by a chemical in the test substrate (Luning, 1966 ; Sorsa and Pfeifer, 1973). The parameters analysed in the present studies herald the toxicity of the growth regulator in silkworms.

The authors have observed a reduction in fecundity when PABA is treated to silkworms, eg. oral administration and egg treatment of PABA to PM race, oral administration, topical application at III instar and topical application at V instar of PABA to KA race. The fecundity of an organism is one of the fitness component. The reduced fecundity of an organism is not favoured by natural selection, which results in the elimination of the genotype in due course. Fecundity depends on the number of eggs produced, which in turn reflects the number of ovarioles present in the organism. According to Gruwez *et al.* (1971), the fecundity and number of ovarioles in *D. melanogaster* are dependent on the conditions in which the worms are grown. The fecundity of an organism also depends on its hormonal system. The reduction in fecundity of silkworms in the present studies might be due to the effect of PABA in their hormonal system, which in turn might have affected the development of ovarioles.

The perusal of tables I and II shows that the groups of PM and KA races obtained by administration of PABA showed reduction in hatchability in many instances. Reduced hatchability is attributed to the effect of PABA on growing embryos. This conclusion of the authors is in conformity with the earlier studies on *Drosophila* (Luning, 1966 ; Sankaranarayanan, 1969).

The authors have observed the lengthening of the larval duration when PABA was administered by oral feeding, egg treatment and topical application methods to PM and KA races. Akai *et al.* (1978), Krishnaswami *et al.* (1979) and Kuwana *et al.* (1984) have also observed an increased larval period when they used juvenile hormones to improve silk yield. They attributed this prolongation to the physiological changes in silkworms due to chemical administration. But Bonnier (1960) is of the opinion that the rate of development depends on both genetic and environmental factors. As no discernible differences between control and treated were noticed in subsequent generations (data not provided) the authors feel that PABA alters the cellular environment and increases larval duration.

The total number and weight of cocoons harvested, yield by number and weight/10,000 larvae brushed are the characters which portray the productivity. The productivity depends on Darwinian fitness and viability. Further, viability is an adaptive trait of an individual, the increase of which qualifies itself to survive and perpetuate in a given environment. This trait is also vulnerable to the changes in the internal and external factors. The present experiments reveal that oral administration of PABA to PM race induces a significant reduction in all the above mentioned four characters in all the three concentrations tested. Similarly, the topical application of PABA to III and V instar larvae of KA race also showed a significant reduction in all the above mentioned characters.

Thus, out of eight parameters analysed in PM race, the authors have observed significant variations in six characters when PABA was administered by oral feeding and egg treatment methods, five in topical application to III instar and all eight characters in topical application to V instar. Similarly in KA, six characters were affected in the groups treated with PABA by oral feeding and egg treatment, and all eight characters when topically applied. Therefore on the basis of these results, it can be concluded that high concentrations (above 50 ppm) of PABA are toxic to silkworms.

REFERENCES

- AKAI H., KIGUCHI K., KOBARI Y., SHIBUKAWA A. (1978), Practical utilisation of juvenoids for increasing silk production. Scientific paper of the Institute of Organic and Physical Chemistry of Wroclaw Tech. University, No 22, Conf. 7, 781-892.
 BONNIER G. (1960), Experiments on hybrid superiority in *Drosophila melanogaster*. II Rate of development from egg hatching to eclosion. Genetics, 46, 86-91.
 GAYATHRI M.V., KRISHNAMURTHY N. B. (1979), Differential sensitivity of different species

- of *Drosophila* to Ceresan - a mercurial fungicide. Ind. J. Exp. Biol., 17(4), 433-435.
- GRUWEZ G., HOSTE C., LINTS C.V., LINTS F.A. (1971), Oviposition rhythm in *Drosophila melanogaster* and its alterations by a change in photoperiodicity. Experientia, 27, 1414-1416.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing. Bulletin no. 2. CSR & TI Mysore, India.
- KRISHNASWAMI S., BENCHAMIN K.V., GEETHADEVI R.G., RAGHURAMAN R. (1980), Studies on the effect of juvenile hormone analog ZR 512 in silkworms. Ann. Re. CSR & TI Mysore, India.
- KUWANA E., TAKEYA R., ETO M. (1984), Synthesis and antijuvenile activity of 1-citronellyl-5 substituted imidazole. Agric. Biol. Chem., 48(12), 3115-3119.
- LUNING K.G. (1966), *Drosophila* tests in pharmacology. Nature, 209, 84-86.
- PAI I. K., HEGDE S. N., KRISHNAMURTHY N. B. (1986), Effect of paraaminobenzoic acid on the hatchability in silkworm, *Bombyx mori* (L). Ind. Zool., 10(1&2), 7-13.
- POHL R., ROTHER W. (1953), Sporenkeimung und Myzelwachstum von *Phycomyces Blakesleeana* unter dem Einfluss von Wuchs und Hemstoffen der höheren Pflanzen. Biol. Zent., 72, 364-372.
- RAPOPORT I. A., VASILEVA S. V., DAVNICHENKO L. S. (1980), Role of p-aminobenzoic acid in the repair of damage caused by UV and gamma radiations. Dokl. Biol. Sci., 247(1-6), 1017-1020.
- SANKARANARAYANAN K. (1969), The effect of nitrogen and oxygen frequency of X-ray induced dominant lethals and the physiology of the sperms in *Drosophila melanogaster*. Mut. Res., 4, 641-661.
- SNEDECOR W. G., COCHRAN C. W. (1967), (Eds). Statistical methods. Oxford and IBH Publications, India.
- SORSA M., PFEIFER S. (1973), Effect of Cadmium on development time and prepupal puffing pattern of *Drosophila melanogaster*. Hereditas, 74, 273-277.
- TAZIMA Y. (1978) (Ed), The silkworm : an important laboratory tool. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan.
- VASILEVA S. V., DAVNICHENKO L.S. (1983), Specific influence of p-aminobenzoic acid upon mutagenesis in phenotypic analysis of Arg. Positive revertants induced by N-nitro-N-methylurea in *E. coli* K-12. Genetika, 19(11), 1916-1920.

TOXICITE DE L'ACIDE PARAAMINOBENZOIQUE CHEZ LES RACES PURE MYSORE ET KALIMPONG-A DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

I.K. PAI, S.N. HEGDE & N.B. KRISHNAMURTHY

Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore 570 006, Inde.

On a étudié les effets toxiques de l'acide paraaminobenzoïque (PABA), vitamine bactérienne et régulateur de croissance présent dans les aliments artificiels et dans les milieux de culture tissulaire d'insectes, sur les races Pure Mysore et Kalimpong-A du ver à soie Bombyx mori. Trois concentrations subléthales de PABA sont administrées suivant trois méthodes : 1) traitement des oeufs, 2) administration orale et 3) application topique au 3e et au 5e âge. La LC50 est calculée pour tous les traitements. Huit paramètres importants de toxicité sont analysés chez tous les groupes traités. On observe une réduction significative pour la plupart de ces caractères de performance. Dans certains cas, la réduction est proportionnelle à la concentration utilisée, tandis qu'elle ne l'est pas dans certains autres cas. A partir de ces résultats, on peut conclure que, bien que le PABA soit indispensable dans les cultures tissulaires et dans les aliments artificiels, il est toxique à fortes doses.

INTRODUCTION

L'acide paraaminobenzoïque (PABA), une substance cristalline incolore prismatique monocline, se trouve à l'état naturel sous la forme de facteur complexe "B". Il inhibe l'action bactériostatique des sulfamides et forme un pont entre l'acide ptéroïque et l'acide glutamique dans la formation de l'acide folique. Il est également considéré comme une vitamine bactérienne. On sait que le PABA accélère le processus de réparation de l'ADN (Rapoport et coll., 1980) et sert d'agent antimutagène (Vasileva et Davnichenko, 1983). De plus, l'étude de la documentation montre que tant les aliments artificiels que les milieux de culture de tissus de vers à soie contiennent des traces de PABA (Tazima, 1978) utilisé comme régulateur de croissance. Cependant, de nombreux régulateurs de croissance sont toxiques (Pohl et Rother, 1953). Ainsi, compte tenu de l'importance du PABA dans l'alimentation du ver à soie et le manque d'information sur sa toxicité, les présentes expériences ont été réalisées sur deux races du ver à soie *B. mori*. Les résultats sont présentés dans cet article.

MATERIELS ET METHODES

Une race polyvoltine, Pure Mysore (PM), et une race bivoltine, Kalimpong-A (KA), élevées à l'Université de Mysore (Mysore 570 006, Inde) constituent le matériel de cette expérience. La LC50 est calculée pour les différents caractères. La LC50 la plus faible (800 ppm) est observée pour la nourriture orale. Le produit chimique est administré suivant diverses méthodes : 1) administration orale de 50, 100 et 200 ppm de PABA à partir du 3e âge jusqu'au stade du filage, 2) traitement des oeufs des vers à soie avec 50, 100 et 200 ppm de PABA pendant 30 minutes, 3) application topique de PABA au 3e âge à des concentrations de 250, 500 et 750 mg/100 vers et 4) application topique de PABA au 5e âge larvaire dans des concentrations de 1, 2 et 3 g/100 vers. Pour l'administration chimique on a suivi le procédé décrit par Pai et coll. (1986). Huit paramètres importants pour la toxicité - à savoir : la fécondité, la durée larvaire, le nombre total de cocoons récoltés, le poids total des cocoons

récoltés, le rendement en nombre pour 10 000 larves levées, le rendement en poids pour 10 000 larves levées, le nombre de larves levées et le pourcentage d'éclosion - sont analysés chez le témoin et les lots traités. Toutes les expériences sont menées en laboratoire dans des conditions standards suivant les méthodes d'élevage des vers à soie décrites par Krishnaswamy (1978). Les résultats obtenus sont soumis à des analyses statistiques (analyse de variance suivant la méthode de Snedecor et Cochran, 1967) et sont présentés dans les tableaux I et II.

RESULTATS

Le tableau I montre que les groupes de la race PM du ver à soie *B. mori* traités par voie orale avec du PABA présentent une variation significative ($P < 0,05$) pour six des huit caractères analysés. Le nombre total de cocons récoltés est de 62 chez les lots traités à la concentration de 50 ppm et de 66 aux concentrations de 100 et 200 ppm contre 96 chez le témoin (la valeur F est de 7,26 au seuil de 0,05). Le rendement en nombre pour 10 000 larves levées est le plus faible à la concentration de 50 ppm, tandis que le rendement en poids pour 10 000 larves levées est le plus faible à la concentration de 100 ppm. De plus, la diminution de la fécondité et du nombre de larves levées est proportionnelle à l'augmentation de la concentration.

Lorsque les oeufs PM sont traités à différentes concentrations de PABA, la durée larvaire passe de 581 heures chez le témoin à 653 heures aux concentrations de 50 et 100 ppm et 643 heures à la concentration de 200 ppm (valeur F 15,74 au seuil de 0,05). Le nombre total de cocons récoltés et le rendement en nombre pour 10 000 larves levées sont les plus élevés à la concentration de 100 ppm. La fécondité diminue de manière significative ($P < 0,05$) pour toutes les concentrations.

Chez les lots de vers à soie PM traités par application topique de PABA au 3^e âge, le nombre total de cocons récoltés tombe à 58 à la concentration de 50 mg/100 vers et passe de 90 chez le témoin à 96 pour la concentration de 250 mg/100 vers. De même, le rendement en nombre et en poids pour 10 000 larves levées, la fécondité et le nombre de larves levées sont améliorés à la concentration de 250 mg/100 vers ; tandis qu'aux concentrations plus fortes de 500 mg et de 750 mg/100 vers, tous les caractères cités enregistrent une baisse. De plus, à la concentration de 250 mg/100 vers, le pourcentage d'éclosion diminue tandis qu'il augmente avec des concentrations plus fortes.

Le lot des vers à soie PM traités par application topique de PABA au 5^e âge présente une durée larvaire prolongée à 648 heures à toutes les concentrations contre 624 heures chez le témoin. Alors que le poids total des cocons et le rendement en poids pour 10 000 larves levées augmentent à la concentration de 1 g/100 vers, ils diminuent lorsque les concentrations sont plus fortes. La fécondité, le pourcentage d'éclosion et le nombre de larves levées diminuent à la concentration de 2 g/100 vers et augmentent aux concentrations de 1 g et 3 g pour 100 vers.

Le tableau II montre que l'administration orale sur la race KA induit une prolongation de la durée larvaire qui passe de 624 heures chez le témoin à 643 heures pour 200 ppm. Le nombre total de cocons récoltés est plus élevé avec 100 ppm, tandis qu'il est inférieur avec les deux autres concentrations. Le pourcentage d'éclosion est amélioré de manière significative avec 100 ppm et réduit avec les deux autres concentrations.

Les lots de vers à soie KA obtenus après traitement des oeufs présentent une réduction significative du nombre total de cocons récoltés, du poids total des cocons récoltés et du rendement en nombre pour 10 000 larves levées à toutes les concentrations étudiées. Cependant, le rendement en poids pour 10 000 larves levées est amélioré de façon négligeable. La fécondité et le nombre de larves levées augmentent de manière non significative à la concentration de 200 ppm, alors que le pourcentage d'éclosion diminue de manière significative en fonction des doses.

Les lots de la race KA traités par application topique de PABA au 3^e âge montrent une prolongation significative de la durée larvaire pour les trois concentrations utilisées. Le nombre total et le poids des cocons récoltés, le rendement en nombre et en poids pour 10 000 larves levées, la fécondité, le nombre de larves levées et le pourcentage d'éclosion diminuent de manière significative à toutes les concentrations utilisées mais pas en fonction des doses.

Le tableau II montre également que l'application topique de PABA aux larves du 5^e âge de la race KA prolonge la durée larvaire (576 heures chez le témoin, 605 heures avec les concentrations de 2 et 3 g/100 vers). Le nombre total et le poids de cocons récoltés, le rendement en nombre et en

poids pour 10 000 larves levées, la fécondité et le nombre de larves levées diminuent également de manière significative à toutes les concentrations.

DISCUSSION

La fécondité, le taux d'éclosion et la vitesse de développement, la viabilité, etc. font partie des paramètres importants pour évaluer la toxicité de tout traitement chimique ou physique sur les systèmes expérimentaux d'animaux (Luning, 1966 ; Sankaranarayanan, 1969 ; Gayathri et Krishnamurthy, 1979). Ceux-ci sont des indices pratiques des divers effets somatiques provoqués par un produit chimique donné (Luning, 1966 ; Sorsa et Pfeifer, 1973). Les paramètres analysés dans la présente étude permettent de mettre en évidence la toxicité d'un régulateur de croissance sur les vers à soie.

Les auteurs ont relevé une réduction de la fécondité quand le PABA est appliqué sur les vers à soie, par exemple par administration topique et par traitement des oeufs sur la race PM, par application topique au 3e âge et par application topique au 5e âge sur la race KA. La fécondité d'un organisme est l'un des composants d'aptitude. La diminution de la fécondité d'un organisme n'est pas favorisée par la sélection naturelle qui se traduit par l'élimination du génotype le moment venu. La fécondité est donnée par le nombre d'oeufs produits, qui à son tour reflète le nombre d'ovarioles présents dans l'organisme. D'après Gruwez et coll. (1971), la fécondité et le nombre d'ovarioles chez *D. melanogaster* dépendent des conditions d'élevage. La fécondité d'un organisme dépend également de son système hormonal. Il se peut que la diminution de la fécondité des vers à soie dans la présente étude soit due à l'effet du PABA sur leur système hormonal, qui peut ensuite avoir affecté le développement des ovarioles.

La lecture des tableaux I et II montre que les lots des races PM et KA obtenus par administration orale de PABA présentent une diminution significative du taux d'éclosion dans plusieurs cas. On attribue la diminution de ce taux à l'effet du PABA sur les embryons. Cette conclusion des auteurs est conforme avec les études antérieures effectuées chez *Drosophila* (Luning, 1966 ; Sankaranarayanan, 1969).

Les auteurs ont remarqué une prolongation de la durée larvaire quand le PABA est administré par voie orale, par traitement des oeufs et par application topique sur les races PM et KA. Akai et coll. (1978), Krishnaswamy et coll. (1979) et Kuwana et coll. (1984) ont également observé une augmentation de la durée larvaire quand ils utilisent des hormones juvéniles pour améliorer le rendement en soie. Ils attribuent cette prolongation à des changements physiologiques chez les vers à soie, changements causés par l'administration du produit chimique. Mais Bonnier (1960) est de l'avis que la vitesse de développement dépend à la fois des facteurs génétique et environnementaux. Etant donné qu'aucune différence distincte n'a été remarquée entre le témoin et les lots traités aux générations suivantes (données non publiées), les auteurs pensent que le PABA modifie l'environnement cellulaire et augmente la durée larvaire.

Le nombre total et le poids des cocons récoltés, le rendement en nombre et en poids pour 10 000 larves levées sont les caractères qui reflètent la productivité. Celle-ci dépend de l'aptitude darwinienne et de la viabilité. De plus, la viabilité est un trait de l'adaptabilité d'un individu et son augmentation lui permet de survivre et de se perpétuer dans un environnement donné. Ce trait est également vulnérable aux changements des facteurs externes et internes. Les expériences décrites ici révèlent que l'administration orale de PABA à la race PM induit une diminution significative des quatre caractères mentionnés ci-dessus à toutes les concentrations utilisées. De même, l'application topique de PABA aux larves du 3e et du 5e âge de la race KA entraîne une diminution significative de tous les caractères cités plus haut.

Ainsi, sur les huit paramètres analysés chez la race PM, les auteurs ont observé des variations significatives pour six paramètres lorsque le PABA est administré par voie orale ou par traitement des oeufs, pour cinq paramètres lorsqu'il y a une application topique au 3e âge et pour les huit paramètres lorsqu'il y a une application topique au 5e âge. De même chez KA, six caractères sont affectés chez les lots traités au PABA par voie orale ou par traitement des oeufs et les huit caractères sont affectés par l'application topique. Ces résultats permettent donc de conclure que le PABA à forte concentration (au-dessus de 50 ppm) est toxique pour les vers à soie.

STUDIES ON THE UZI FLY PARASITIZATION OF THE MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

J. SRIKANTH, PRASADKUMAR & S. MALLIKARJUNAPPA

Department of Entomology, University of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, India.

Parasitization of the mulberry silkworm, Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae), in the middle of the fifth instar by the uzi fly, Exorista bombycis (Louis) (Diptera : Tachinidae), had significantly reduced the cocoon weight by 58.7 % and the pupal weight by 68.9 % whereas it had no effect on the cocoon shell weight. Parasitization resulted in 100 % stained cocoons as against 3.3 % stained cocoons produced by unparasitized larvae. Further, 76.1 % cocoons had emergence holes made by maggots while 23.9 % had one to two fly pupae inside.

Keywords : *Bombyx mori* L., uzi fly, parasitization, effect on cocoon characters.

INTRODUCTION

The uzi fly, *Exorista bombycis* (Louis) (Ghorpade, 1982), parasitizes the third to fifth instar larvae of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., resulting in serious quantitative and qualitative losses in silk production (Krishnaswami *et al.*, 1964 ; Jolly and Kumar, 1985). Parasitization during the late or early fifth instar is known to cause differential losses in terms of per cent shell weight and marketable cocoon weights (Krishnaswami *et al.*, 1964 ; Srikanth *et al.*, 1988). However, the pattern of this loss would not be clear until and unless such a loss is quantified for the intervening periods. We report here the findings of a study conducted to ascertain the losses in silk output per larva if infested in the middle of the fifth instar.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the Department of Entomology (University of Agricultural Sciences, Bangalore, India) in August 1988, when the average laboratory temperature was $25.2 \pm 0.6^\circ \text{C}$. Since at this temperature the incubation period of the uzi fly was about 2.7 days (Patil and Govindan, 1984), fifth instar silkworm larvae were exposed to adult flies for egg laying on the first day of the instar to ensure parasitization in the middle of the instar. The worms were exposed in two batches to three mated female uzi flies each for oviposition in wooden cages. The worms receiving eggs were removed from the cages at 2 h intervals and kept in a wooden rearing tray lined with paraffin paper, ensuring that each worm had two eggs. One hundred such worms were fed with mature mulberry leaves until pupation. The duration of the fifth instar of the silkworm and the incubation period of uzi fly eggs were found to be 168 h and 72 to 96 h, respectively. Since the eggs were laid on the first day of the instar, hatching occurred in the middle of the instar, i. e. when the worms were 72 to 96 h old. The subsequent appearance of black lesions on the larvae further aided in the identification of parasitized worms whose percentage was recorded. Observations were also made on the cocoon, pupal and cocoon shell weights of parasitized and unparasitized larvae, and percentage of parasitized cocoons with maggot emergence holes.

RESULTS AND DISCUSSION

Amongst the parasitized worms, 7.7 % died without reaching pupation, 3.8 % died after spinning a thin layer of silk and 88.5 % spun cocoons with hard shells. Thus, parasitization in the middle of the fifth instar resulted in low larval mortality and formation of a large percentage of normal cocoons. In contrast, larval mortality was higher and cocoons spun by all parasitized worms were without hard shells when infestation occurred in the early fifth instar (Srikanth *et al.*, 1988).

Parasitization of silkworm larvae in the mid-fifth instar had significantly reduced the cocoon weight by 58.7 % ($t = 12.424$, d. f. 81, $P < 0.001$) and pupal weight by 68.9 % ($t = 14.064$, d. f. 81, $P < 0.001$) (Table I) as the parasitized larva failed to form normal pupa. However, parasitization had no effect on the cocoon shell weight which remained on par with that of the unparasitized worm ($t = 0.419$, d.f. 81, NS). In other words, parasitization had adversely affected the formation of pupa which constituted only 63.8 % of total cocoon weight as against 84.8 % in the case of unparasitized larva and this in turn contributed to the reduction in cocoon weight. Although the uzi fly attack in the early fifth instar in a laboratory study (Srikanth *et al.*, 1988) and in late fifth instar in open rearings (Krishnaswamy *et al.*, 1964) resulted in significant reductions in the cocoon shell weight, in the present study, however, no reduction in the cocoon shell weight was observed despite the parasitization occurring in the mid-fifth instar. This could be due to the effect of the prevailing environmental conditions because fly attack in different months had been reported to produce differential reduction in the shell weight (Krishnaswamy *et al.*, 1964). It is likely that the behaviour of the maggot of not attacking the silk glands (Datta and Mukherjee, 1978) might have enabled the parasitized worms to spin normal cocoons.

Table I. Composition of cocoons from unparasitized and parasitized silkworm larvae.

Tableau I. Composition des cocons des larves de vers à soie parasitées et non parasitées.

Character <i>Caractère</i>	Unparasitized larva		Parasitized larva		Percentage reduction over unparasitized worms <i>Pourcentage de réduction par rapport aux vers non parasités</i>
	Actual weight (g)	Percentage	Actual weight (g)	Percentage	
	<i>Larve non parasitée</i>		<i>Larve parasitée</i>		
	<i>Poids réel (g)</i>	<i>Pourcentage</i>	<i>Poids réel (g)</i>	<i>Pourcentage</i>	
Cocoon / Cocon	1.767	100.0	0.730	100.0	58.7
Cocoon shell / Coque	0.258	14.6	0.264	36.2	-
Pupa / Chrysalide	1.498	84.8	0.466	63.8	68.9
Cast skin / Tégument	0.011	0.6	-	-	-

Although parasitized worms spun apparently normal cocoons with hard shell and their shell weight did not differ significantly from that of unparasitized larvae, a majority of them (76.1 %) were

rendered unreelable due to the presence of emergence holes cut by mature maggots. Parasitization also resulted in 100 % stained cocoons as against 3.3 % stained cocoons produced by unparasitized larvae. Further, 23.9 % cocoons of parasitized worms had no emergence holes but one to two fly pupae were found inside them. Thangavelu and Sahu (1982) found that at least 15 % of maggots pupated inside the cocoon of the host from which most of the adult flies were unable to escape and they suggested that this behaviour operates to regulate populations of the tachinid. However, this phenomenon may be related to the time of parasitization as well as the rate of development of maggots.

REFERENCES

- DATTA R.K., MUKHERJEE P. K. (1978), Life history of *Tricholyga bombycis* (Diptera : Tachinidae), a parasite of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Ann. Ent. Soc. Am., 71, 767-770.
- GHORPADE K. (1982), Identity of the *Exorista* (Diptera : Tachinidae) species parasitic on mulberry silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae), in India. Colemania, 2, 55-56.
- JOLLY M. S., KUMAR P. (1985), A three pronged approach to control uzi fly. Indian Silk, 23(10 & 11), 5-9.
- KRISHNASWAMI S., JOLLY M. S., DUTTA K. (1964), A study on the fly pest infestation of the larvae and cocoon of *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 3, 7-12.
- PATIL G. M., GOVINDAN R. (1984), Effect of temperature on the development of uzi fly, *Exorista sorbillans* (Wiedemann) (Diptera : Tachinidae) in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 23, 38-41.
- SRIKANTH J., BASAPPA H., LINGAPPA S. (1988), Effect of uzi fly parasitization on food consumption and growth of the mulberry silkworm *Bombyx mori* L. Insect Sci. Applic., 9(3), 373-376.
- THANGAVELU K., SAHU A. K. (1982), A note on the phenomenon of population regulation in uzi fly (*Exorista sorbillans* Wied.) (Diptera : Tachinidae). Nat. Acad. Sci. Lettersn, 5, 359-360.

ETUDES SUR LE PARASITISME DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* PAR LA MOUCHE UZI

J. SRIKANTH, PRASADKUMAR & S. MALLIKARJUNAPPA

Department of Entomology, University of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, Inde.

*Le parasitisme du ver à soie **Bombyx mori** (Lepidoptera : Bombycidae) au milieu du 5ème âge larvaire par la mouche uzi **Exorista bombycis** (Louis) (Diptère : Tachinidae) réduit de manière significative le poids du cocon de 58,7 % et le poids de la chrysalide de 68,9 % alors qu'il n'a aucun effet sur le poids de la coque. Le parasitisme donne 100 % de cocons tachés alors que l'on obtient 3,3 % de cocons tachés avec des larves saines. De plus, 76,1 % des cocons présentent des trous faits par l'émergence des asticots alors que 23,9 % renferment 2 à 3 pupes de mouche à l'intérieur.*

INTRODUCTION

La mouche uzi *Exorista bombycis* (Louis) (Ghorpade, 1982) parasite les larves du 3ème au 5ème stade du ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L. causant de sérieuses pertes quantitatives et qualitatives dans la production de soie (Krishnaswami et coll., 1964 ; Jolly et Kumar, 1985). On sait que le parasitisme au début ou à la fin du dernier stade larvaire cause des pertes différentes en termes de pourcentage du poids de la coque et du poids des cocons (Krishnaswami et coll., 1964 ; Srikanth et coll., 1988). Néanmoins, les causes de ces pertes ne seront pas élucidées sans une étude quantitative en fonction des périodes concernées. Les résultats de notre étude confirment que la perte de soie par larve est liée à l'infestation au milieu du 5ème âge.

MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée au Département d'Entomologie (University of Agricultural Sciences, Bangalore, Inde) au mois d'août, alors que la température moyenne en laboratoire était de $25,2 \pm 0,6^\circ\text{C}$. Puisqu'à cette température la période d'incubation de la mouche uzi était de 2,7 jours (Patil et Govindan, 1984), les larves du ver à soie ont été exposées aux mouches adultes pour la ponte d'oeufs le premier jour du 5ème stade afin d'avoir un parasitisme en milieu de stade. Les vers sont placés dans deux lots ayant chacun trois mouches femelles fécondées pour l'oviposition dans des boîtes en bois. Les vers ayant des oeufs sont enlevés de la boîtes à intervalles de deux heures et placés dans des claies d'élevage en bois recouvertes de papier paraffiné en prenant soin que chaque ver ait deux oeufs. Une centaine de ces vers ont été nourris avec des feuilles de mûriers matures jusqu'à la nymphose. La durée du 5ème âge des vers et la période d'incubation des oeufs de la mouche uzi ont été respectivement de 168 h et 72 à 96 h. Après la ponte des oeufs le premier jour du stade, l'éclosion a lieu en milieu de stade, à savoir lorsque les oeufs avaient entre 72 et 96 heures. L'apparition consécutive de lésions noires sur les larves par la suite a permis d'identifier les vers parasités et le pourcentage a été enregistré. Des observations ont également été faites sur le cocon, le poids de la coque et de la nymphe des vers parasités et sains ainsi que sur le pourcentage des cocons parasités présentant des trous d'émergence des mouches.

RESULTATS ET DISCUSSION

Parmi les vers parasités, 7,7 % sont morts sans atteindre la nymphose, 3,8 % après le filage d'une faible coque de soie et 88,5 % filèrent leur cocon avec une coque dure. L'infestation au milieu du 5ème âge entraîne une faible mortalité larvaire et l'on obtient un pourcentage important de cocons normaux. A l'inverse, la mortalité larvaire est plus élevée et les cocons filés par les vers parasités n'ont pas de coque dure lorsque l'infestation a lieu au début du 5ème âge (Srikanth, et coll., 1988).

Le parasitisme des larves du ver à soie au milieu du 5ème âge réduit de façon significative le poids du cocon de 58,7 % ($t = 12,424$, degré liberté 81, $P < 0,001$) et le poids nymphale de 68,9 % ($t = 14,064$, degré liberté 81, $P < 0,001$) (tableau I), la larve parasitée ne donnant pas de chrysalides normales. Néanmoins, le parasitisme n'a pas d'effet sur le poids de la coque qui reste identique à celui des vers sains ($t = 0,419$, degré liberté 81, NS). En d'autres termes, le parasitisme a affecté de façon négative la formation de la chrysalide qui représente seulement 63,8 % du poids total du cocon alors qu'elle est de 84,8 % pour les larves saines, ce qui contribue à la réduction du poids du cocon. Bien que l'attaque de la mouche *uzi* ait lieu en début de 5ème âge dans l'élevage réalisé en laboratoire (Srikanth et coll., 1988) et en fin de 5ème âge dans les élevages réalisés en extérieur (Krishnaswamy et coll., 1964), elle entraîne des réductions significatives du poids de la coque ; aucune réduction du poids de la coque n'a été observée dans cette étude malgré l'apparition du parasitisme en milieu de 5ème âge. Ceci est sans doute lié aux conditions environnementales lors de l'attaque des mouches, car il a été montré que la réduction du poids de la coque soyeuse est différente selon les mois (Krishnaswamy et coll., 1964). Il est probable que les asticots n'ont pas attaqué les glandes séricigènes (Datta et Mukherjee, 1978) ceci ayant permis aux vers parasités de filer des cocons normaux.

Bien que les vers parasités filent en apparence des cocons normaux avec une coque dure et que le poids de la coque ne soit pas significativement très différent des vers non parasités, un grand nombre de ces cocons (76,1 %) ne sont pas dévidables à cause du trou provoqué par l'émergence des asticots matures. Le parasitisme donne 100 % de cocons tachés alors que les larves saines ne produisent que 3,3 % de cocons tachés. 23,9 % des cocons provenant de vers parasités n'avaient pas de trous d'émergence mais un cocon sur deux avait une puppe de mouche à l'intérieur. Thangavelu et Sahu (1982) indiquent qu'environ 15 % des asticots se métamorphosent en puppe à l'intérieur des cocons de l'hôte et que la plupart des mouches adultes sont incapables de s'échapper et précisent que ce comportement régule les populations de tachinidés. Néanmoins, ce phénomène peut être lié à la période de parasitisme ainsi qu'au taux de développement des asticots.

SCREENING OF INSECTICIDES AGAINST THE MAGGOTS AND PUPAE OF THE UZI FLY, *EXORISTA SORBILLANS* WIED. (DIPTERA : TACHINIDAE)

M. S. JOLLY, M. BAIG, B. NATARAJU, M. V. SAMSON & S. K. SEN

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

Eight insecticides viz., BHC, Sevin, Ekalux, Cropgor, Dansuban, Folithion, Malathion and Elsan were tried both as spray and dust on maggots and as spray on different ages of uzi fly pupae. The concentrations used for the maggots were 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 %, whereas for pupae 0.01, 0.1, 1.0 and 5.0 % were used. Cropgor, Ekalux, Dansuban and Malathion were found to be effective in killing the maggots at 0.05 % concentration and above, while for the pupae, the effective concentrations were 1 % and above.

Keywords : Maggot, pupa, *Exorista sorbillans* Wied., insecticide, *Bombyx mori*, effective.

INTRODUCTION

Exorista sorbillans Wied., a parasite of the silkworm, *Bombyx mori* L., formerly confined to the north-eastern part of India (Mukherjee, 1919 ; Ghosh, 1949) has recently spread over the southern states of India, threatening the existence of the silk industry. The male sterilization study with chemosterilants (Datta and Mukherjee, 1978) to control the fly pest was carried at laboratory level, but could not be extended to the field. No work has so far been undertaken to investigate the possibility of controlling the parasite using insecticides. So the present work has been undertaken to screen some insecticides against the maggots and pupae of the uzi fly, *Exorista sorbillans*.

MATERIALS AND METHODS

The uzi fly maggots were collected from the cocoon markets. Healthy and equal-sized maggots were sorted out for dusting and spraying of insecticides. Some of the maggots were allowed to pupate. The insecticides tested were B.H.C. (benzene hexachloride), Seven (Carbaryl I Naphthyl N-methyl carbamates, Cropgor OO-dimethyl S-(N-methyl carbamoyl methyl) phosphorodithioate), Ekalux, Malathion (OO-dimethyl S-1 2-DS (ethoxycarbonyl) Ethyl phosphorodithiate Dansuban (phosphorothioate), Folithion (fenitrothion) and Elson (phenothate). Seven concentrations of each insecticide, i.e., 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 % were taken into consideration to be used for the maggots as spray as well as dusting. For dusting, 100 g of Kaolin was mixed with 100 ml of the required concentration of the insecticide and dried at room temperature. The concentrations of the insecticides used as spray for the pupae were 0.01, 0.1, 1.0 and 5.0 %. 100 maggots and pupae were replicated four times for each concentration. The data on the rate of mortality of the maggots and pupae were collected till emergence.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on the per cent mortality at different concentrations of insecticides as spray for the maggots are summarised in Table I. A perusal of Table I indicates that out of the eight insecticides, Cropgor, Folithion and Elsan were found most effective as spray, where 100 % mortality was observed in all concentrations used.

Table II shows as dust, the insecticides, namely Cropgor, Malathion, Folithion and Ekalux, were effective. Cropgor was effective at 0.1 % and above concentrations, Malathion at 0.5 % and above, while Folithion and Ekalux from 1 % and above.

The per cent mortality at different concentrations of insecticides used for pupae of different ages as spray (Table III) indicates that only Dansuban, Ekalux, Malathion and Cropgor were found effective at 1.0 % and 5.0 % concentrations. Out of these, Ekalux was the most effective followed by Cropgor, Dansuban and Malathion.

Table I. Screening of insecticides against uzi fly maggots as spray.

Tableau I. Essais d'insecticides appliqués par pulvérisation sur les asticots de la mouche uzi.

Insecticide <i>Insecticide</i>	% mortality at different concentrations <i>% de mortalité à différentes concentrations</i>							Control <i>Témoin</i>
	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	
B.H.C.	-	-	-	-	-	-	-	-
Sevin	-	-	-	-	-	-	-	-
Folithion	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Dansuban	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Ekalux	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Elsan	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	-
Cropgor	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Malathion	++	++	++	+++	+++	+++	+++	-

- Less than 45 % mortality / *Mortalité inférieure à 45 %.*

± 45-50 % mortality / *Mortalité entre 45 et 50 %.*

+ 50-60 % mortality / *Mortalité entre 50 et 60 %.*

++ 60-80 % mortality / *Mortalité entre 60 et 80 %.*

+++ 80-100 % mortality / *Mortalité entre 80 et 100 %.*

On the basis of the above observations, it is found that the insecticides are better as spray on maggots and pupae than dusting. As spray, Cropgor followed by Ekalux, Folithion and Malathion are effective. For maggots, any concentration from 0.05 % or above, and for pupae from 1.0 % and above are effective.

Table II. Screening of insecticides against uzi fly maggots as dust.

Tableau II. Essais d'insecticides appliqués sous forme de poudre sur les asticots de la mouche uzi.

Insecticide <i>Insecticide</i>	% mortality at different concentrations <i>% de mortalité à différentes concentrations</i>							Control <i>Témoin</i>
	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	
B.H.C	-	-	-	±	+	±	++	-
Sevin	++	++	+	++	++	+++	+++	-
Folithion	++	+	++	++	+++	+++	+++	-
Dansuban	±	±	-	+	++	+++	+++	-
Ekalux	±	±	-	++	+++	+++	+++	-
Elsan	-	±	+	+	+	+	+++	-
Cropgor	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Malathion	±	+	+	+++	+++	+++	+++	-

Table III. Screening of insecticides against uzi fly pupae as spray.

Tableau III. Essais d'insecticides appliqués par pulvérisation sur les pupes de la mouche uzi.

Pupal age (days) <i>Age pupal (jours)</i>	% mortality at different concentrations of insecticides <i>Pourcentage de mortalité à différentes concentrations</i>							
	Dansuban 1.0 % 5.0 %		Ekalux 1.0 % 5.0 %		Malathion 1.0 % 5.0 %		Cropgor 1.0 % 5.0 %	
1	+++	+++	+++	+++	±	+++	++	+++
2	++	+++	+++	+++	-	++	++	+++
3	+++	+++	++	+++	-	+	±	++
4	-	+++	++	+++	+++	+++	-	+++
5	+++	+++	+++	+++	±	-	++	+++
6	-	+++	±	+++	+++	+++	-	+++
7	++	+++	++	+++	++	+++	±	+++
8	-	+++	+++	+++	++	+++	±	+++
9	-	+++	++	+++	++	+++	±	+++
10	-	-	++	+++	++	+++	-	+++
11	+	++	+	+++	±	+++	-	+++

- Less than 45 % mortality / *Mortalité inférieure à 45 %.*

± 45-50 % mortality / *Mortalité entre 45 et 50 %.*

+ 50-60 % mortality / *Mortalité entre 50 et 60 %.*

++ 60-80 % mortality / *Mortalité entre 60 et 80 %.*

+++ 80-100 % mortality / *Mortalité entre 80 et 100 %.*

Since all the insecticides are highly toxic to the silkworm, those cannot be used in the rearing house for killing the uzi maggots and pupae falling on the floor. The work on the screening of the insecticides has been carried out with the object of destroying the maggots and pupae of uzi fly that come out with litters, bed refuse, etc. The infested larvae, maggots and pupae are to be collected, put in separate pits and killed by the insecticide spray.

REFERENCES

- GHOSH C.C. (1949), Silk production and weaving in India, CSIR Monograph, pp. 62-64.
MUKHERJEE N.G. (1919), Handbook of sericulture, pp. 112-119.
DATTAR. K., MUKHERJEE P. K. (1978), Sterilization of *Tricholyga bombycis*, a parasite of *B. mori* with Tepa and Thiotepa. J. Econ. Entomol., 71, 373-376.

SELECTION DE DIVERS INSECTICIDES CONTRE LES ASTICOTS ET LES PUPES DE LA MOUCHE UZI *EXORISTA SORBILLANS* WIED. (DIPTERA : TACHINIDAE)

M. S. JOLLY, M. BAIG, B. NATARAJU, M. V. SAMSON & S. KEN

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

On a testé huit insecticides sur la mouche uzi, à savoir : le BHC, le Sevin, l'Ekalux, le Cropgor, le Dansuban, le Folithion, le Malathion et l'Elsan, par pulvérisation et par saupoudrage sur les asticots et par pulvérisation sur les pupes de différents âges. On utilise des concentrations de 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 et 5,0 % pour les asticots et de 0,01, 0,1, 1,0 et 5,0 % pour les pupes. Le Cropgor, l'Ekalux, le Dansuban et le Malathion sont les plus efficaces sur les asticots à des concentrations égales ou supérieures à 0,05 %, tandis que, pour les pupes, les insecticides sont efficaces à des concentrations égales ou supérieures à 1 %.

INTRODUCTION

Exorista sorbillans Wied., parasite du ver à soie *Bombyx mori* L., que l'on trouvait à l'origine seulement dans la région nord-est de l'Inde (Mukherjee, 1919 ; Gosh, 1949) s'est récemment propagé dans les Etats du sud de l'Inde, menaçant l'existence de l'industrie de la soie. L'étude de la stérilisation chimique du mâle (Datta and Mukherjee, 1978) pour lutter contre ce parasite diptère a été conduite en laboratoire, mais il n'a pas été possible de l'appliquer sur le terrain. Jusqu'à présent, aucun travail n'a été entrepris sur la possibilité de lutter contre ce parasite au moyen d'insecticides. La présente étude vise donc à sélectionner certains insecticides contre les asticots et les pupes de la mouche uzi *Exorista sorbillans*.

MATERIELS ET METHODES

Les asticots de la mouche uzi proviennent des marchés aux cocons. Des asticots sains et de taille égale sont triés en vue de la pulvérisation et du saupoudrage des insecticides. Certains de ces asticots sont conservés pour la pupaison. Les insecticides testés sont le BHC (hexachlorure de benzène), le Sevin (carbamate carbaxyl I Naphyl N-méthyl), le Cropgor (phosphorodithioate 00-diméthyl S-(N-carbannyl méthyl), l'Ekalux, le Malathion (phosphorodithioate d'éthyle 00-diméthyl S-1 2-DS (éthyoxy-carbonyl), le Dansuban (phosphorothioate), le Folithion (fénitrothion) et l'Elsan (phenothoate). Pour le test sur les asticots, on a utilisé 7 concentrations de chacun des insecticides, c'est-à-dire 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 et 5,0 %, pour la pulvérisation et le saupoudrage. Pour le saupoudrage, on mélange 100 g de kaolin avec 100 ml de la concentration voulue de l'insecticide, le mélange est ensuite séché à température ambiante. Les concentrations des insecticides utilisés par vaporisation sur les pupes sont de 0,01, 0,1, 1,0 et 5,0 %. Pour chacune des concentrations, on a traité 4 réplicats de 100 asticots et pupes. Les données sur le taux de mortalité des asticots et des pupes sont relevées jusqu'à l'éclosion.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données sur le pourcentage de mortalité en fonction de la concentration des différents insecticides appliqués par vaporisation sont résumés dans le tableau I. La lecture du tableau I indique que, sur les huit insecticides, les plus efficaces par vaporisation sont le Cropgor, le Folithion et l'Elsan, la mortalité étant de 100 % à toutes les concentrations testées.

Le tableau II montre que les insecticides les plus efficaces utilisés par saupoudrage sont le Cropgor, le Malathion, le Folithion et l'Ekalux. Le Cropgor agit à des concentrations égales ou supérieures à 0,1 %, le Malathion est efficace à partir de 0,5 % tandis que le Folithion et l'Ekalux sont efficaces à partir de 1 %.

Le pourcentage de mortalité en fonction de la concentration des différents insecticides utilisés par vaporisation sur les pupes à différents âges (tableau III) indique que, seuls le Dansuban, l'Ekalux, le Malathion et le Cropgor sont efficaces à des concentrations de 1,0 et 5,0 %. L'Ekalux est le plus efficace suivi du Cropgor, du Dansuban et du Malathion.

Ces observations montrent que les insecticides sont plus performants lorsqu'ils sont vaporisés sur les asticots et les pupes que lorsqu'ils sont saupoudrés. Pour les asticots, toute concentration égale ou supérieure à 0,05 % est efficace et, pour les pupes, toute concentration égale ou supérieure à 1,0 %.

Etant donné que tous les insecticides sont fortement toxiques pour le ver à soie, ils ne peuvent être utilisés dans la pièce d'élevage pour éliminer les asticots et les pupes qui tombent par terre. Le travail de sélection de ces insecticides est réalisé dans le but de détruire les asticots et les pupes de la mouche uzi dans les ordures, les litières usagées, etc. Les larves infestées, les asticots et les pupes doivent être prélevés et déposés dans des récipients séparés et éliminés par vaporisation de l'insecticide.

KARYOTYPE AND MEIOTIC BEHAVIOUR OF A NATURAL TRIPLOID MULBERRY (*MORUS* L.)

S.P. CHAKRABORTI, A. SARKAR* & B.C. DAS**

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, West Bengal, India.

The karyotype and meiosis of a natural sterile triploid mulberry were studied. A series of homomorphic chromosome triplets and a high percentage of trivalents observed at metaphase-I confirm autotriploidy. A high degree of irregularity in meiosis leads to sterility of the plant.

Keywords : Natural triploid, karyotype, meiosis.

INTRODUCTION

The phenomenon triploidy was discovered by Gates (1908) in the hybrid *Oenothera* and a large number of triploids has been described since then. In mulberry, a number of artificial triploids was evolved by crossing induced tetraploids with diploids (Das *et al.*, 1970). In India, the natural triploid in mulberry was reported for the first time (Das, 1971) and the meiotic behaviour in general has been studied (Das *et al.*, 1984). The detailed chromosome study including its karyotype has not yet been done. In this paper the detailed chromosome analysis has been presented.

MATERIALS AND METHODS

For this study of mitotic chromosome, the young leaf tips were pretreated with a saturated solution of paradichlorobenzene (PDB), fixed in 1:3 propionic-ethanol overnight and stained in aceto-orcein. The meiotic chromosomes were studied from PMCs following aceto-carmine method (Sharma and Sharma, 1980). Photomicrographs were taken from temporary slides. The arm ratio and centromeric index (F %) was calculated after Battaglia (1955). In the idiogram (Fig. 2) the chromosomes were arranged according to the type and under each type, the chromosomes were arranged in decreasing value of length. Germination of pollen was studied following the hanging drop method.

RESULTS

Karyotype :

42 chromosomes were counted in the metaphase plates (Fig. 1). On the basis of the overall length and centromeric position, the somatic chromosomes could be assembled in fourteen triplets. Most of the chromosomes were submedian in constriction. The median centromere was present in one triplet. The chromosomes in one triplet were very large as compared to others and were found to be 0.800 μ .

* Deputy Director, C.S.R. & T.I., Mysore 570 008, India.

** Former Director of Research, C.S.R & T.I., Berhampore, West Bengal, India.

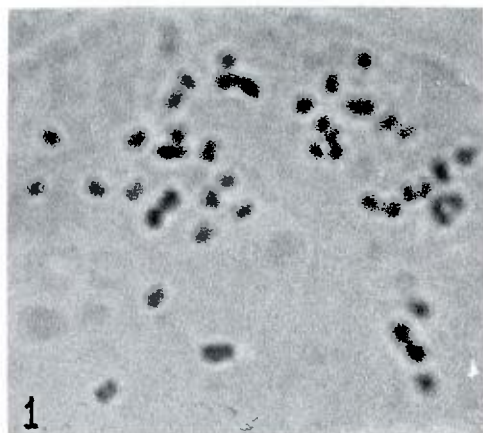


Fig. 1 : Somatic chromosomes at methaphase showing 42 chromosomes ($\times 7500$).

Fig.1 : Chromosomes somatiques en méthaphase montrant 42 chromosomes ($\times 7500$).

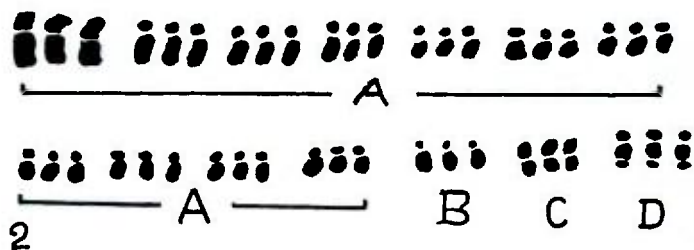


Fig. 2 : Idiogram of 42 chromosomes.

Fig. 2 : Idéogramme des 42 chromosomes.



Fig. 3 : Chromosomes at methaphase I ($\times 6300$).
Fig. 3 : Chromosomes en méthaphase I ($\times 6300$).

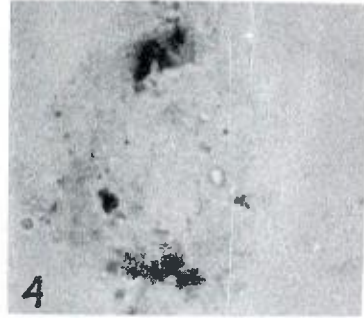


Fig. 4 : Anaphase I showing a lag of one chromosome ($\times 6300$).
Fig. 4 : Anaphase I montrant le retard d'un chromosome ($\times 6300$).



Fig. 5 : Telophase II showing a lag of one chromosome ($\times 6700$).
Fig. 5 : Télaphase II montrant le retard d'un chromosome ($\times 6700$).

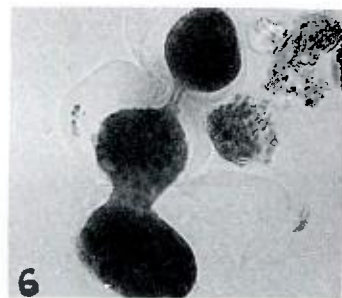


Fig. 6 : Showing cytomixis ($\times 4200$).
Fig. 6 : Cytomixie ($\times 4200$).

Table I. Karyotype details in triploid mulberry.

Tableau I. Détails du karyotype chez le mûrier triploïde.

Chromosome Triplets	Length in microns (μ) Longueur en microns (μ)			Arm ratio LA/SA Rapport bras L/C	Centromeric index (F%) Indice centromérique	Position of centromere Position du centromère
	Long arm Bras longs	Short arm Bras courts	Total length Longueur totale			
I	0.533	0.267	0.800	1.99	33.37	Sm
II	0.400	0.266	0.666	1.50	39.93	Sm
III	0.400	0.266	0.666	1.50	39.93	Sm
IV	0.373	0.160	0.533	2.33	30.01	Sm
V	0.373	0.160	0.533	2.33	30.01	Sm
VI	0.333	0.133	0.466	2.50	28.54	Sm
VII	0.333	0.133	0.466	2.50	28.54	Sm
VIII	0.266	0.134	0.400	1.98	33.50	Sm
IX	0.266	0.134	0.400	1.98	33.50	Sm
X	0.266	0.134	0.400	1.98	33.50	Sm
XI	0.266	0.134	0.400	1.98	33.50	Sm
XII	0.333	0.067	0.400	4.97	16.75	St
XIII	0.200	0.200	0.400	1.00	50.00	M
XIV	0.200	0.133	0.466	2.50	28.54	*

* Sm with secondary constriction / *Sub-médian avec constriction secondaire.*

Sm : Submedian / *Sub-médian.*

M : Median / *Médian.*

St : Subterminal / *Sub-terminal.*

in length. Chromosomes with submedian primary constriction were grouped as A. Subterminal primary constrictions were found in the three chromosomes and were grouped as B. Median constriction was present in one triplet and was grouped as C. Secondary constriction was found in one triplet and was located in the long arm of the chromosome. All the nucleolar chromosomes were placed separately in group D. The length of the chromosomes in whole complement ranged from 0.800 μ to 0.400 μ . The absolute chromatin length in the haploid set was observed to be 2.332 μ .

Meiotic analysis :

The earliest stage studied in the PMCs was metaphase I. Trivalents occurred in most of the cells varying from 11 to 14 per cell. Bivalents and trivalents were also present (Fig. 3). Bivalents and univalents were present in very low frequencies ranging from 0-4 and 0-2 respectively. At anaphase I, irregular distribution of chromosomes such as (22 + 20), (23 + 19) and (24 + 18) at the poles were observed. The occurrence of laggard in the form of univalent was also noted in anaphase I and telophase II (Fig. 4 and 5). The occurrence of cytotoxicity was observed in the tetrad stage (Fig. 6). Pollen grains were variable in size ranging from 13.3 μ to 30 μ and failed to germinate in the 2 % sucrose solution by the hanging drop method.

DISCUSSION

The results of the present study confirm autotriploidy in the naturally occurring triploid mulberry. The karyotype and the chromosome pairing during meiosis speak undoubtedly in favour of autotriploidy. At metaphase I, a high frequency of trivalent formation is observed, indicating a very high degree of homology among chromosome triplets which prevail in many autotriploid plants (Khoshoo and Sharma, 1959 ; Rao and Reddi, 1970). The unequal separation during anaphase and the formation of predominantly aneuploid gametes are solely due to the mode of trivalent segregation where three chromosomes from each trivalent segregate in such a way that one chromosome passes to each pole while the third chromosome generally moves non-preferentially to either of the poles. The occurrence of laggard in the telophase I and II is a regular feature in triploid mulberry and has arisen from the equatorial univalents. The irregular meiosis is attributed to sterility which is commonly associated with triploidy.

REFERENCES

- BATTAGLIA E. (1955), *Caryologia*, 8, 178-187.
DAS B. C. (1971), Ph. D. Thesis, University of Calcutta.
DAS B. C., PRASAD D. N., SIKDAR A. K. (1970), *Caryologia*, 23, 283-293.
DAS B. C., VERMA R. C., SARKAR A. (1984), *Cell and Chromosome Research*, 7, 60-61.
GATES R. R. (1908), *Bot. Gaz.*, 48, 179-199.
KHOSHOO T. N., SHARMA V. B. (1959), *Chromosoma*, 10, 136-143.
MADHUSUDANA RAO G., REDDI M. V. (1970), *Cytologia*, 36, 509-514.
SHARMA A. K., SHARMA A. (1980), *Chromosome Techniques*, Butterworth & Co., London.

CARYOTYPE ET COMPORTEMENT MEIOTIQUE D'UN MURIER TRIPLOÏDE NATUREL (*MORUS* L.)

S.P. CHAKRABORTI, A. SARKAR & B.C. DAS

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, West Bengal, Inde.

Le caryotype et la méiose d'un mûrier triploïde stérile naturel ont été étudiés. Une série de triplets de chromosomes homomorphiques et un pourcentage élevé de trivalents observés en métaphase I confirment l'autotriploïdie. Un degré élevé d'irrégularité de la méiose conduit à la stérilité de la plante.

INTRODUCTION

Le phénomène de la triploïdie a été découvert par Gates (1908) chez l'hybride *Oenothera* et un grand nombre de triploïdes ont été décrits depuis. Chez les mûriers, de nombreux triploïdes artificiels sont produits en croisant des tétraploïdes induits avec des diploïdes (Das et coll., 1970). Un triploïde naturel du mûrier a été découvert pour la première fois en Inde (Das, 1971) et le comportement méiotique général a été étudié (Das et coll., 1984). L'étude détaillée des chromosomes ainsi que leurs caryotypes n'a pas encore été faite. Dans cet article, l'analyse détaillée des chromosomes est étudiée.

MATERIELS ET METHODES

Pour l'étude des chromosomes mitotiques, les bourgeons de jeunes feuilles sont prétraités dans une solution saturée de paradichlorobenzène (PDB) fixés dans l'acide propionique éthanol 1:3 durant une nuit et colorés avec de l'orcéine acétique. Les chromosomes méiotiques sont étudiés à partir des PMC selon la méthode carmin acétique (Sharma et Sharma, 1980). Des photographies au microscope ont été prises à partir des lamelles temporaires. Le rapport des bras et l'index centrométrique (F %) sont calculés d'après Battaglia (1955). Dans l'idéogramme (Fig.2), les chromosomes sont disposés en fonction de la catégorie et de chaque type, selon l'ordre décroissant de longueur. La germination du pollen est étudiée en utilisant la méthode de la goutte pendante.

RESULTATS

Caryotype :

On compte 42 chromosomes sur les plaques de métaphase (Fig. 1). En fonction de la longueur totale et de la position centromérique, on peut regrouper les chromosomes somatiques en quatorze triplets. La plupart des chromosomes ont une constriction sub-médiane. Le centromère médian est présent dans un triplet. Les chromosomes sont très longs par rapport aux autres et atteignent 0.800 μ de long. Les chromosomes à constriction primaire sub-médiane sont placés dans le groupe A. Les constriction primaires sub-terminales sont détectées dans trois chromosomes qui sont classés dans le groupe B. La constriction médiane n'apparaît que dans un triplet classé dans le groupe C. La constriction secondaire apparaît dans un triplet ; elle est localisée dans le bras long du chromosome. Tous les chromosomes nucléolaires sont placés séparément dans le groupe D. La longueur des chromosomes dans tous les groupes varie de 0.800 μ à 0.400 μ . La longueur absolue dans le lot

haploïde est de 2.332μ .

Analyse méiotique :

La méthaphase est le premier stade étudié dans les PMC. Des trivalents apparaissent dans la plupart des cellules ; leur nombre varie de 11 à 14 par cellule. Des bivalents et des trivalents sont aussi présents (fig. 3). Des bivalents et des univalents sont en faible nombre allant de 0-4 pour les bivalents et de 0-2 pour les univalents. On constate une distribution irrégulière des chromosomes dans l'anaphase I, (22 + 20), (23 + 19) et (24 + 18) aux pôles. La présence d'univalents tardifs est aussi constatée pendant l'anaphase I et la télophase II (fig. 4 et 5). La présence d'une cytomixie est observée au stade des tétrades (fig. 6). La taille des grains de pollen varie de 13.3μ à 30μ et il n'y a pas germination lorsqu'ils sont placés dans une solution de sucrose à 2% suivant la méthode de la goutte pendante.

DISCUSSION

Les résultats de cette étude confirment la présence de l'autotriploïdie chez les mûriers naturellement triploïdes. Le caryotype et l'appariement des chromosomes lors de la méiose témoignent indiscutablement de la présence de l'autotriploïdie. Au cours de la méthaphase I, on observe une fréquence élevée de formations de trivalents, ce qui indique une forte homologie entre les triplets chromosomiques qui sont prépondérants chez de nombreuses plantes autotriploïdes (Khoshoo et Sharma, 1959 ; Rao et Reddi, 1970). La séparation inégale au cours de l'anaphase et la formation de gamètes aneuploïdes prédominantes sont dues uniquement au mode de ségrégation des trivalents dans lesquels trois chromosomes de chacun des trivalents se séparent de telle façon qu'un chromosome est transféré à chaque pôle tandis que le troisième chromosome se déplace indifféremment vers l'un ou l'autre pôle. La présence d'un chromosome latent dans les télophases I et II est un caractère commun chez les mûriers triploïdes et résulte des univalents équatoriaux. La méiose irrégulière est liée à la stérilité qui est communément associée à la triploïdie.

THREE Bm 1 ELEMENTS IN THE NEIGHBOURHOOD OF SILKGLAND EXPRESSED GENES IN *BOMBYX MORI*

TROIS ELEMENTS Bm 1 DANS LE VOISINAGE DES GENES EXPRIMES DANS LA GLANDE SERICIGENE DE *BOMBYX MORI*

E.G. ABRAHAM, A. SIRONMANI, P. COUBLE, N. MOUNIER & A. GAREL*

Centre de Génétique moléculaire et cellulaire, CNRS UMR 106, Université Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F 69622 Villeurbanne Cedex, France.

A highly dispersed family (23000/haploid genome) of transcribed oligo-A terminated DNA elements called Bm1 had been evidenced in the genome of *Bombyx mori* (Adams *et al.*, 1985). They tend to fall into two size classes of 250 bp and 450 bp elements. Here we describe the occurrence of three more elements of this family corresponding to the 250 bp class. The element **Bm1 a** is located in the large intron of the Ser II gene coding for a sericin and 90 bp from the retrotransposon Mag (Michaille *et al.*, 1990a; Michaille *et al.*, 1990b); **Bm1 b** is in the 5' adjacent region of the cytoplasmic actin gene A3 (Mounier and Prudhomme, 1986); **Bm1 c** is 3800 bp upstream from the P25 gene (Couble *et al.*, 1985). The SerII and the P25 genes encode silk proteins. Two of these Bm1 show 90 to 92 % homology with the consensus sequence established by Adams *et al.* (1985). All of them have poly A tracks and evidence a 450 nucleotide polyA+RNA species in all tissues observed (larval posterior and middle silk gland, intestine and muscle, pupa, adult thorax, abdomen and ovaries), in agreement with the *in vitro* experiment (Wilson *et al.*, 1988) showing a 450 b transcript RNA polymerase III dependent.

Une famille d'éléments mobiles Bm1 (23000 par génome haploïde) dispersés dans le génome de Bombyx mori a été mise en évidence par Adams et coll. (1985). Ces éléments sont polyadénylés et se regroupent en deux classes de taille (250 pb et 450 pb) correspondant à une troncature de la séquence initiale. Nous montrons ici l'existence de trois de ces éléments :

***Bm1 a** est localisé dans un des introns du gène de séricine Ser II (Michaille et coll., 1990a) au voisinage immédiat (90 pb) du rétroposon Mag (Michaille et coll., 1990b) ; **Bm1 b** est situé dans la région 5' adjacente du gène d'actine cytoplasmique A3 (Mounier et Prudhomme, 1986) ; **Bm1 c** se trouve à 3800 pb en aval du gène codant pour P25 (Couble et coll., 1985). Les gènes Ser II et P25 codent pour des protéines de la soie. Deux de ces éléments présentent 90 à 95 % d'homologie avec la séquence consensus établie (Adams et coll., 1985). Tous ont une séquence polyA dans la région 3' terminale et hybrident les espèces d'ARN de 450 nucléotides à des degrés divers selon les tissus observés (sécrétuteur, réservoir, intestin, muscle larvaire, pupa, thorax et abdomen adultes, ovaires) en accord avec les résultats de transcription in vitro par la polymérase III (Wilson et coll., 1988).*

* To whom correspondence should be addressed.

THREE BMI ELEMENTS NEAR SILKGAND EXPRESSED GENES

Consensus	CGGTAATTAC	TGGTGGTAGG	ACCTCTTG TG	AGTCCGCGCG	GGTAGGTACC	ACCGCCCTGC	60
Bmla	CGGTTTTA..			C	...G.....	...A.....	
Bmlb	TA.A.TC...		.G.....	T...		...A.....	
Bmlc	AATCTC....			A..		.G.A-.....	
CTATTCTGC	CGTGAAGCAG	TAATGCGTTT	CGGTTTGAAG	GGTGGGCGAG	CCGTTGTAAC	TATACT-GAG	130
.....		..T....G.		...A.....		T...	
.....				A.....G.	...G.---	---.....	
.....A..	T.....T			..CA.....		.GTTAAAAA	
ACCTTAGAAC	-TTATATCTC	AAGGTGGGTG	GCGCATTTAC	GTTGTAGATG	TCTATGGGCT	CCGGTAACCA	200
.....				A..	G.....	..TA.....	
.....	C.....G		..A.....			..A.....	
GTGAG.C.TA	C.C..G....	T	-	AC..		.T.....T..	
CTTAACACCA	AGTGGGCTGT	GAGCTCGTCC	ATCCATCTAA	GCAATAAAAA	AAAAAAAAAN	NTNA	270
.....	G.....		.CA.....G	A.....	..GTGTCTGG	TTGTCAACTG	
.....T..	G.....	T.A.	.C.....C		.TT.....TA	AATATGTTTG	
....T....	G-----	-----	-----	C...	TT..CGTGAC	GTTTCGATAGG	

A dot at any position represents the same nucleotide as in the consensus. Dashes were inserted to provide maximum alignment of the sequences.

Les points représentent la position des nucléotides identiques à ceux de la séquence consensus. Les tirets ont été introduits pour obtenir le meilleur alignement des séquences.

REFERENCES

- ADAMS D. S., EICKBUSH T. H., HERRERA R. J., LIZARDI P. M. (1985), J. Mol. Biol., 187, 465-478.
- COUBLE P., CHEVILLARD M., MOINE A., RAVEL-CHAPUIS P., PRUDHOMME J-C. (1985), Nucl. Acids Res., 13, 1801-1814.
- MICHAILLE J-J., GAREL A., PRUDHOMME J-C. (1990a), Gene, 86, 177-184.
- MICHAILLE J-J., MATHAVAN S., GAILLARD J. and GAREL A. (1990b), Nucl. Acids Res., 18, 674.
- MOUNIER N., PRUDHOMME J-C. (1986), Biochimie, 68, 1053-1061.
- WILSON E. T., CONDLIFFE D. P., SPRAGUE K. U. (1988), Mol. Cell. Biol., 8, 624-631.

ARTIFICIAL HATCHING OF BIVOLTINE SILKWORM EGGS, *BOMBYX MORI*, AT DIFFERENT HOURS OF OVIPOSITION FOR TROPICAL CONDITIONS (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE)

H. K. HURKADLI & A. MANJULA

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

Bivoltine silkworm eggs, Bombyx mori, viz. NB7, KA, NB18 and NB4D2, are being used for artificial hatching. The present study on acid treatment for artificial hatching conducted at different room temperatures existing at different seasons clearly indicates that the safer period and range of acid treatment vary from race to race for each of the room temperatures.

Keywords : *Bombyx mori*, eggs, oviposition, artificial hatching.

INTRODUCTION

Sericulture is being practiced all over Karnataka State, where, depending upon the agro-ecological conditions, the temperature and humidity vary from place to place and season to season. At present, a standard procedure of hot acid treatment (artificial hatching) is available to prevent bivoltine silkworm eggs from entering into diapause (Krishnaswamy *et al.*, 1973). Considering the lacunae the need for identifying the safer period and range for acid treatment after different hours of oviposition during different seasons was realised and therefore the present study is taken up.

MATERIALS AND METHODS

In the present study the four popular bivoltine silkworm eggs, viz. NB7, KA, NB18 and NB4D2 are being used. The laboratory bred seed cocoons were processed and preserved under optimal conditions of 25°C temperature and 70-75 % relative humidity. To get synchronised oviposited eggs the egg sheets were changed after a gap of every two hours. The eggs to be acid treated were divided into 35 groups according to the duration from the time of oviposition to the treatment for artificial hatching, that is from the 6th to 40th hour. Layings were preserved under normal room temperatures of 24°C, 25°C, 26°C, 28°C, 30°C, 33°C and 35°C. Silkworm eggs were treated with 1.075 specific gravity of HCl at 46.1°C for a period of 5 minutes. Practical hatchability was considered with the maximum percentage of hatched eggs on two successive days. The number of hatched eggs, unfertilized eggs, dead eggs, unhatched eggs were counted visually and the percentage of hatching was calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

The suitable time for acid treatment was 17-38 hours after being laid at a room temperature of 24°C-26°C, during which the hatching percentage was 95-98 %. With the increase in the room temperature the safer period for acid treatment narrows down. The safer period of acid treatment for getting the maximum hatching at 28°C was 15-30 hours after oviposition, at 30°C it was 12-18 hours

after oviposition, at 33°C it was 7-17 hours after oviposition and at 35°C the suitable/safer period for acid treatment was 7-13 hours after oviposition. It was interesting to note that the safer period and range of acid treatment at each of the room temperatures vary amongst the four silkworm races (Table I).

Table I. Hatching percentage of bivoltine races at different hours of oviposition.

Tableau I. Pourcentage d'éclosion des races bivoltines à différents moments après l'oviposition.

Sl. no.	Race	Temperature and safer period for acid treatment / Hatching percentage after different hours of oviposition					
		24°C	Hatching %	25°C	Hatching %	26°C	Hatching %
N° de série	Race	Température et période favorable pour le traitement à l'acide / Pourcentage d'éclosion à différents moments après l'oviposition					
		24°C	% d'éclosion	25°C	% d'éclosion	26°C	% d'éclosion
01	NB7	17-38 hrs	95-98	17-35 hrs	95-98	16-32 hrs	94-98
02	KA	17-34 hrs	95-98	16-32 hrs	95-98	16-30 hrs	94-98
03	NB18	16-38 hrs	95-98	17-35 hrs	95-98	17-34 hrs	94-98
04	NB4D2	17-39 hrs	95-98	16-38 hrs	95-98	16-37 hrs	94-98

Table I. Continued.

Tableau I. Suite.

Sl. no.	Race	Temperature and safer period for acid treatment / Hatching percentage after different hours of oviposition							
		28°C	Hatching %	30°C	Hatching %	33°C	Hatching %	35°C	Hatching %
N° de série	Race	Température et période favorable pour le traitement à l'acide / Pourcentage d'éclosion à différents moments après l'oviposition							
		28°C	% éclosion	30°C	% éclosion	33°C	% éclosion	35°C	% éclosion
01	NB7	15-29 hrs	92-95	12-19 hrs	90-95	7-17 hrs	90-95	7-12 hrs	90-95
02	KA	16-28 hrs	92-95	11-18 hrs	90-95	7-15 hrs	90-95	7-11 hrs	90-95
03	NB18	15-27 hrs	92-95	13-20 hrs	90-95	8-17 hrs	90-95	7-13 hrs	90-95
04	NB4D2	17-30 hrs	92-95	11-18 hrs	90-95	7-13 hrs	90-95	7-12 hrs	90-95

Sp. Gr. of HCl / *Densité de l'HCl*: 1.075 ; Temp. of HCl: 46.1°C ; Duration / *Durée du traitement* : 5 min.

The silkworm embryo starts its development after two and a half hours of oviposition (Kawaguchi, 1926). In Karnataka at present only one procedure of acid treatment of silkworm eggs is followed, i.e. before 24 hours of oviposition irrespective of room temperature and season. As a result there are many complaints/problems about the eggs undergoing diapause even after acid treatment, leading to irregularity in hatching which results in 2-3 days brushing of silkworm larvae. This is more so common in hotter regions. Tazima (1962) with bivoltine silkworm races demonstrated that the eggs kept at 25°C are to be acid treated before 18-20 hours after oviposition (temperate conditions). Krishnaswamy *et al* (1973) have suggested that the bivoltine silkworm eggs are to be acid treated within 20-24 hours of oviposition, eggs preserved at room temperature of 25°C. Bnachorm *et al*. (1979) have shown that, for tropical conditions, the right time for conducting the common acid treatment is about 15-20 hours after oviposition, where the eggs are preserved at 24°C-25°C.

In the present study the maximum hatching percentage was observed at room temperature of 24°C-26°C and safer period/range for acid treatment was 17-38 hours after oviposition. The higher the room temperature the hatching percentage comes down but it is above 90 % and the range/safer period for acid treatment also narrows down.

From the present experiment for the tropical country it is inferred that the range and suitable period of acid treatment varies from 6-38 hours after oviposition at room temperature of 24°C-35°C respectively. With this, a greater risk of bivoltine silkworm eggs entering into diapause can be prevented especially in areas where the temperature is high.

ACKNOWLEDGEMENTS

Sincere thanks are due to the Director and Registrar, Karnataka State Sericulture Development Institute, for encouragement and facilities.

REFERENCES

- BNACHORM K., HERNKITCHANURUK D., CHAOSATTAKUL P., PACHMONT P., SORNCHIT K., CHAOSUTTAKUL D., TERIGRATANAPRASERT S. (1979), Experiment on the time for egg deposition to the acid treatment on artificial hatching. Bulletin of the Thai. Seric. Res. and Training Centre, No 9.
- KAWAGACHI (1926), Silkworm rearing and diseases of silkworms, published by Mysore Silk Association 1956, pp. 30.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYAN S. K., KUMARARAJ S. (1973), Sericulture Manual 2 - Silkworm rearing. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, pp. 51.
- TAZIMA Y. (1962), Silkworm egg published by Central Silk Board, pp. 28 - 29.

ECLOSION ARTIFICIELLE D'OEUF DU VER A SOIE BOMBYX MORI (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE) BIVOLTINS A DIFFERENTS MOMENTS APRES L'OVIPOSITION DANS DES CONDITIONS TROPICALES

H.K. HURKADLI & A. MANJULA

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

*Les oeufs du ver à soie bivoltin **Bombyx mori** des races NB7, KA, NB18 et NB4D2 sont utilisés pour l'éclosion artificielle. La présente étude, qui porte sur l'éclosion artificielle par traitement à l'acide réalisé à différentes températures ambiantes et diverses saisons, montre clairement que les périodes et leurs durées optimales pour le traitement à l'acide varient selon les races pour chacune des températures ambiantes.*

INTRODUCTION

La sériciculture est pratiquée sur l'ensemble de l'Etat du Karnataka où, suivant les conditions agro-écologiques, la température et l'humidité varient d'un endroit à l'autre et d'une saison à l'autre. Actuellement, on dispose d'une méthode standard de traitement à l'acide chaud (éclosion artificielle) pour éliminer la diapause chez les oeufs du ver à soie bivoltin (Krishnaswamy et coll., 1973). On a pris conscience de la nécessité d'identifier les périodes optimales pour le traitement à l'acide au cours des différentes saisons.

MATERIELS ET METHODES

Pour cette étude, on utilise les oeufs de quatre races de vers à soie bivoltins communément utilisées, à savoir : NB7, KA, NB18 et NB4D2. Les cocons, obtenus à partir de graines élevées en laboratoire, sont traités et conservés dans des conditions optimales à une température de 25°C et à une humidité relative de 70-75 %. Pour assurer la synchronisation des oeufs pondus, les cartons de pontes sont changés toutes les deux heures. Les oeufs destinés au traitement à l'acide sont divisés en 35 groupes en fonction du temps écoulé entre l'oviposition et le traitement, c'est-à-dire de 6 à 40 heures. Les pontes sont conservées à des températures ambiantes normales de 24°C, 25°C, 26°C, 28°C, 30°C, 33°C et 35°C. Les oeufs sont traités dans une solution d'HCl d'une densité de 1,075 à 46.1°C pendant 5 minutes. L'éclosion réelle est déterminée sur la base du pourcentage maximal d'oeufs éclos sur deux journées consécutives. Les nombres d'oeufs éclos, d'oeufs non fécondés, d'oeufs morts et d'oeufs non éclos sont comptés de manière visuelle. Le pourcentage d'éclosion est ensuite calculé.

RESULTATS ET DISCUSSION

La période optimale pour le traitement à l'acide est de 17 à 38 heures après la ponte à une température ambiante de 24°C à 26°C et pour laquelle le pourcentage d'éclosion est de 95 à 98 %. Lorsque la température ambiante augmente, la période optimale pour le traitement à l'acide se restreint progressivement. La période permettant d'obtenir l'éclosion maximale par traitement à l'acide est de

15 à 30 heures après l'oviposition à 28°C, de 12 à 18 heures après l'oviposition à 30°C, de 7 à 17 heures après l'oviposition à 33°C et de 7 à 13 heures après l'oviposition à 35°C. Il est intéressant de noter que les périodes optimales pour le traitement à l'acide et leurs durées varient entre les quatre races (Tableau I).

Le développement de l'embryon du ver à soie commence deux heures et demie après l'oviposition (Kawaguchi, 1926). Dans le Karnataka, une seule méthode de traitement à l'acide des oeufs de ver à soie est actuellement suivie : dans les 24 heures qui suivent l'oviposition quelles que soient la température ambiante et la saison. En conséquence, de nombreux éleveurs se plaignent que les oeufs subissent une diapause même après traitement à l'acide, entraînant de ce fait une éclosion asynchrone qui se traduit par une levée des larves de 2 à 3 jours ; ceci est encore plus courant dans les régions chaudes. Tazima (1962) a démontré que, chez les races bivoltines, les oeufs conservés à 25°C doivent être traités à l'acide 18 à 20 heures après l'oviposition (dans des conditions tempérées). Krishnaswamy et coll. (1973) ont suggéré que les oeufs des vers à soie bivoltins doivent être traités à l'acide dans les 20 à 24 heures après l'oviposition (oeufs conservés à 25°C). Bnachorm et coll. (1979) ont démontré que, dans des conditions tropicales, la meilleure période pour procéder au traitement habituel à l'acide est environ 15 à 20 heures après l'oviposition lorsque les oeufs sont conservés de 24°C à 25°C.

Dans la présente étude, on observe que le pourcentage maximal d'éclosion est obtenu à une température ambiante de 24°C à 26°C et la période/durée optimale pour le traitement à l'acide est de 17 à 38 heures après l'oviposition. Plus la température ambiante est élevée, plus le pourcentage d'éclosion diminue tout en restant au-dessus de 90 % et plus la période/durée optimale se restreint.

Sur la base de cette expérience pour les pays tropicaux, on peut conclure que la durée de la période pour le traitement à l'acide varie de 6 à 38 heures après l'oviposition pour une température ambiante de 24°C à 35°C, respectivement. Cette méthode peut contribuer à éliminer le risque de la diapause chez les oeufs des vers à soie bivoltins, particulièrement dans les régions où la température est élevée.

PARASITES OF THE UZI FLY, *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE). IV. RECORD OF A NEW HYPER-PARASITE *DIRHINUS* SP. (HYMENOPTERA : CHALCIDIDAE) OF *BOMBYX MORI* L. AND NOTES ON ITS BIOLOGY

ANAND KUMAR, PRADEEP KUMAR, B. D. SINGH & K. SENGUPTA.

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

A new Dirhinus sp. has been tried to establish on the maggots and pupae of the Uzi fly. It parasitizes the host pupae successfully. The total developmental period from egg to adult averaged 29.00 ± 1.41 days at $27 \pm 2^\circ\text{C}$ and $72 \pm 5\%$ R.H. in the laboratory. The average progeny production was 15.80 ± 2.04 individuals. The sex ratio male : female was 1 : 2.57. The average longevity of unfed males was 9.20 days, female 12.80 days while fed males was 10.6 days and females 15.2 days.

Keywords : *Bombyx mori*, *Exorista sorbillans*, hyperparasite, *Dirhinus* sp.

INTRODUCTION

The Uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae), is a serious endoparasite of silkworm larvae, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) (Jolly, 1981). Recently, under the biological control programme of this fly, five hymenoptera pupal parasites, viz. *Brachymeria lugubris* (Walker), *Dirhinus himalayanus* Westwood (Chalcididae), *Nesolynx thymus* (Girault) (Eulophidae), *Spilomicrus karnatakensis* Sharma (Diapriidae) and *Exoristobia philippinensis* Ashmead (Encyrtidae) have been reported (Samson and Remadevi, 1985 ; Kumar *et al.* , 1986, 1988, 1989). These parasites (except *B. lugubris* and *D. himalayanus*) were also reared in the laboratory on Tachinidae (*Blepharipa zebina*), Muscidae (*Musca domestica* L.), Calliphoridae (*Chrysomelius rufifacies*) and an unidentified Trypetidae.

The genus *Dirhinus* is also reported to be parasitic on family Sarcophagidae (Boucek and Narendran, 1981), Trypetidae and Ichneumonidae (Clausen, 1940) in tropical regions. Lately, a *Dirhinus* sp. has been tried to establish on the larvae and pupae of the Uzi fly with the view to understanding its prospects as a tool in the biological control of this fly.

MATERIAL AND METHODS

To study the mating, pre-oviposition period, larval and pupal parasitization, a pair of newly emerged male and female parasites was confined in 5 glass vials separately for 6, 12, 18 and 24 hours with 10 maggots. The maggots were found to pupate after 8 hours. To observe the emergence, progeny production and sex ratio, a pair of male and female parasites was provided with 10 pupae in 5 glass vials separately. Likewise, longevity was tested in the absence of host pupae with (50 % honey solution) and without food. The host pupae were also dissected daily under stereo zoom microscope to observe the different developmental stages of the parasite. The temperature and humidity recorded in the laboratory were $27 \pm 1^\circ\text{C}$ and $72 \pm 5\%$ respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that the parasite developed successfully and its culture is easily maintainable in the laboratory on the host pupae. It does not parasitize the maggots of the host fly. Eggs were laid singly in loose condition on the body of the host pupae just beneath the puparium without any specific site. Usually the parasite prefers to lay eggs in 1-2 days old pupae. It failed to develop from 4 day old host pupae. The egg stage lasted for 2.20 ± 0.44 days. The larval duration was 10.60 ± 0.89 days. The pupal period recorded was 16.60 ± 0.89 days. The total developmental period from egg to adult was 29.00 ± 1.41 days. The parasite emerged by breaking the host puparium from the anterior side. Mating occurred soon after the emergence. Males and females mate more than once. Unmated females produce male offspring only. Pre-oviposition was recorded after 24 hours, based on the emergence of parasites from that batch. The total average progeny production per mated female was 15.80 ± 2.04 offspring, being 7.80 ± 0.83 , 4.80 ± 0.83 , 3.20 ± 0.44 individuals in 1-7, 8-15 and 16-21 days respectively. The study of parasitization indicated that *Dirhinus sp.* is a solitary ectopupal parasite. Clausen (1940) also reported many *Dirhinus sps.* as ectopupal parasite on dipterans. Unfed males lived an average of 9.20 ± 4.02 days while fed males 10.60 ± 2.60 days. Females survived an average of 12.80 ± 2.58 days without food and 15.20 ± 7.49 days with food.

Detailed studies to characterise the role of this parasite in the biological control programme and to compare its potential with originally reared parasites of the uzi fly are in progress.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Mr T.M. Manjunath, Senior Manager, Bio-control Research Laboratories, Bangalore, for providing the parasite for study.

REFERENCES

- BOUCEK Z., NARENDRAN T.C. (1984), Syst. Entomol., 6, 229.
 CLAUSEN C. P. (1940), Entomophagous insects. McGraw-Hill Book Company, Inc., 688 pp.
 JOLLY M. S. (1981), Uzi fly : Its identification, prevention and control. C.R.S. & T.I., Mysore, p. 1.
 KUMAR P., REDDY V. V., SAMSON M. V., JOLLY M. S. (1986), Record of a new hyperparasite of *Trycholyga bombycis* Beck. (Diptera : Tachinidae), a larval parasite of *Bombyx mori* L. Curr. Sci., 55, 1040-1041.
 KUMAR P., REMADEVI O. K., BANERJEE K., NOMANI M. K. R., JOLLY M. S. (1989), Record of a new pupal parasite, *Spilomicrus karnatakensis* Sharma of *Trycholyga bombycis* Beck. Sericologia, 28, 415-416.
 KUMAR P., REMADEVI O. K., SINGH B. D., JOLLY M. S. (1989), A new record on a pupal endoparasite *Exoristobia philippinensis* of the uzi fly, a serious parasite of silkworm. Curr. Sci., 58, 212.
 SAMSON M. V., REMADEVI O. K. (1985), A new record on the parasites of uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck. Curr. Sci., 54, 1144.

PARASITES DE LA MOUCHE UZI, *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE). IV. OBSERVATION D'UN NOUVEL HYPER-PARASITE *DIRHINUS* SP. (HYMENOPTERA : CHACIDIDAE) DE *BOMBYX MORI* L. ET DESCRIPTION DE SA BIOLOGIE

ANAND KUMAR, PRADEEP KUMAR, B.D. SINGH & K. SENGUPTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Sri Ram Puram, Mysore 570 008, Inde.

On a tenté d'introduire une nouvelle espèce de *Dirhinus* sur les asticots et les pupes de la mouche uzi. On est ainsi parvenu à parasiter les pupes hôtes. La période totale de développement de l'oeuf à l'adulte est en moyenne de $29,00 \pm 1,41$ jours à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ pour une humidité relative de $72 \pm 5\%$ en laboratoire. La fécondité moyenne est de $15,80 \pm 2,04$ individus. Le sex ratio mâle: femelle est de 1:2,57. La longévité moyenne des animaux non nourris est de 9,20 jours pour les mâles et de 12,80 jours pour les femelles et celle des animaux nourris est de 10,6 jours pour les mâles et 15,2 jours pour les femelles.

INTRODUCTION

La mouche uzi *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) est l'un des principaux endoparasites des larves du ver à soie *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) (Jolly, 1981). Récemment, dans le cadre de la lutte biologique contre cette mouche, on a observé l'existence de cinq parasites pupaux hyménoptères, à savoir : *Brachymeria lugubris* (Walker), *Dirhinus himalayanus* Westwood (Chalcididae), *Nesolynx thymus* (Girault) (Eulophidae), *Spilomicrus karnatakensis* Sharma (Diapriidae) et *Exoristobia philippinensis* Ashmead (Encyrtidae) (Samson et Remadevi, 1985 ; Kumar et coll., 1986, 1988, 1989). Tous ces parasites (sauf *B. lugubris* et *D. himalayanus*) ont été élevés en laboratoire sur des tachinidés (*Blepharipa zebina*), des muscidés (*Musca domestica* L.), des calliphoridés (*Chrysomelius rufifacies*) et sur des trypétidés non identifiés.

Il a été observé que, dans les régions tropicales, le genre *Dirhinus* est également un parasite des sarcophagidés (Boucek et Narendran, 1981), des trypétidés et des ichneumonidés (Clausen, 1940). Récemment, on a tenté d'introduire *Dirhinus* sp. sur les larves et les pupes de la mouche uzi pour en déterminer le potentiel comme outil de lutte biologique contre cette mouche.

MATERIELS ET METHODES

Afin d'étudier l'accouplement, la période de pré-oviposition, le parasitisme larvaire et pupal, des couples de parasites mâles et femelles en sortie d'émergence sont conservés séparément dans des flacons en verre contenant chacun 10 asticots pendant 6, 12, 18 et 24 heures. On remarque que les asticots entrent en pupaison après une période de 8 heures. On fournit 10 pupes à chacun des couples de parasites mâles et femelles placés séparément dans 5 flacons en verre afin d'observer l'émergence, la fécondité et le sex ratio. En outre, la longévité est étudiée en l'absence des pupes hôtes avec une solution de miel à 50 % et sans nourriture. Les pupes hôtes sont également disséquées tous les jours et on observe les différents stades du développement du parasite au moyen d'un microscope stéréoscopique. La température et l'humidité relative relevées dans le laboratoire sont respectivement

de $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ et de $72 \pm 5\%$.

RESULTATS ET DISCUSSION

On observe que ce parasite se développe avec succès et qu'il est facile de l'élever en laboratoire sur les pupes hôtes. Il n'infeste pas les asticots de la mouche hôte. Les oeufs sont pondus un à un de manière disparate sur le corps de la pupa hôte au niveau du puparium. Normalement, le parasite pond de préférence ses oeufs sur des pupes âgées de 1 à 2 jours. Il ne se développe pas sur les pupes âgées de quatre jours. Le stade oeuf dure $2,20 \pm 0,44$. La durée larvaire est de $10,60 \pm 0,89$ jours. La durée pupale observée est de $16,60 \pm 0,89$ jours. La durée totale du développement de l'oeuf à l'adulte est de $29,00 \pm 1,41$ jours. Le parasite émerge en perforant la partie antérieure du puparium de l'hôte. L'accouplement se produit peu après l'émergence. Les mâles et les femelles s'accouplent à plusieurs reprises. Les femelles non accouplées produisent une descendance mâle exclusivement. La pré-oviposition est relevée après 48 heures, sur la base des parasites issus de ce lot. La fécondité moyenne par femelle accouplée est de $15,80 \pm 2,04$, soit $7,80 \pm 0,83$, $4,80 \pm 0,83$ et $3,20 \pm 0,44$ individus pour les périodes du 1^{er} au 7^e, du 8^e au 15^e et du 16^e au 21^e jour respectivement. L'étude du parasitisme indique que *Dirhinus sp.* est un parasite ectopupal solitaire. Par ailleurs, Clausen (1940) a observé que de nombreux *Dirhinus sps.* sont parasites ectopupaux des diptères. Les mâles non nourris vivent en moyenne $9,20 \pm 4,02$ jours tandis que les mâles nourris vivent $10,60 \pm 2,60$ jours. Les femelles survivent en moyenne $12,80 \pm 2,58$ jours sans nourriture et $15,20 \pm 7,49$ si elles sont nourries.

Des études détaillées sont en cours pour déterminer le rôle de ce parasite dans le cadre de la lutte biologique et pour comparer son potentiel avec les parasites déjà connus de la mouche uzi.

PEALIUS MORI (HOMOPTERA : ALEYRODIDAE), A NEW RECORD OF AN INSECT PEST OF MORUS SPECIES IN MANIPUR

N. IBOHAL SINGH & Th. BINOY SINGH

Grainage cum Extension Centre (Mulberry), Tiddim Road, Imphal 795001, India.

The State of Manipur is situated at the north-easternmost corner of Indian Union. It lies at the longitude between 93°03' E to 94°78' E and latitude between 23°80' N to 25°68' N. The altitude ranges from valley area of 750 metres (MSL) to hilly area above 1500 metres (MSL). The minimum temperature ranges from 5°C to 22°C $\pm$ 2°C and maximum temperature from 15°C to 31°C $\pm$ 2°C. Sub-tropical humid climatic condition prevails all over the state. The monsoon starts from the early part of May and continues up to September. The annual rainfall varies from 1200 mm to 1500 mm. Sericulture farmers of the state planted different varieties of mulberry trees in different districts of Manipur at different altitudes ranging from 760 m to 900 m. The leaves of the mulberry trees are the principal food of the mulberry silkworm, *Bombyx mori*.

During spring (March-April) and summer seasons (May-June), a new white fly pest is found infesting the tender leaves of improved mulberry varieties. This white fly sucks the cell sap of the tender leaves. It is observed that a numerous quantities of eggs are deposited on the dorsal surface of the semi-mature and mature leaves. The average rate of eggs deposited on the leaves is 4.4 per sq. cm. The eggs are observed covering with a (Fig. 1) waxy whitish membrane. The nymphal stage worms inside the cover also suck the sap and when matured they emerge out of the coverings and start sucking the sap preferably from the ventral surface of the tender leaves.

After prolonged sucking the sap, the leaves become pale, dechlorinated and curled/dwindled. Such leaves are observed unsuitable for feeding silkworm (Fig. 2).

The eggs are oval in shape and slightly dorso-ventrally compressed. They are creamish white to light yellowish in colour (Fig. 1). The newly hatched young flies are more or less whitish in colour and have well-developed wings and prominent sucking proboscis (Fig. 3, Fig. 4).

This white fly comes under the sub-order Homoptera and family Aleyrodidae. It is identified as *Pealius mori* (Takahashi)*. Perusal of the literature showed that the pest infesting the mulberry leaves caused by *P. mori* has not been reported from India so far. The distribution of this white fly is reported only from Taiwan and Thailand.

Further studies on the biology of the fly as well as bio-chemical aspects of the infested food leaves, control measures are underway and findings in these inputs will add more information regarding the new pest of mulberry leaves.

* at C.A.B. International Institute of Entomology, Dept. of Entomology, London.



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

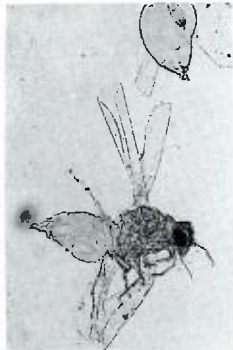


Fig. 4.

**PEALIUS MORI (HOMOPTERA : ALEYRODIDAE),
OBSERVATION D'UN NOUVEL INSECTE PARASITE DES
ESPECES DE MORUS DANS L'ETAT DE MANIPUR**

N. IBOHAL SINGH & Th. BINOY SINGH.

Grainage cum Extension Centre (Mulberry), Tiddim Road, Imphal 795001, Inde.

L'Etat de Manipur est situé à l'extrême nord-est de l'Inde. Il se trouve entre 93°03' et 94°78' de longitude Est et 23°80' et 25°68' de latitude Nord. L'altitude varie de 750 mètres (au-dessus du niveau de la mer) dans les vallées à plus de 1 500 mètres dans les régions montagneuses. Les températures minimales varient de 5°C à 22°C $\pm$ 2°C et les températures maximales de 15°C à 31°C $\pm$ 2°C. Un climat sub-tropical humide règne sur l'ensemble de l'Etat. La mousson commence au début du mois de mai et continue jusqu'en septembre. La pluviométrie annuelle varie de 1 200 mm à 1 500 mm. Les sericulteurs de l'Etat ont planté différentes variétés de mûriers dans plusieurs districts de Manipur à des altitudes de 760 à 900 m. Les feuilles de mûriers sont la principale nourriture du ver à soie du mûrier *Bombyx mori*.

Au cours du printemps (mars-avril) et de l'été (mai-juin), on observe la présence d'un nouveau parasite diptère blanc attaquant les feuilles tendres des variétés de mûrier améliorées. Cette mouche blanche suce le suc cellulaire des feuilles tendres. On remarque que d'importantes quantités d'oeufs sont déposées sur la surface des feuilles semi-matures et matures. La quantité moyenne d'oeufs déposés sur les feuilles est de 4,4 par cm². Les oeufs sont recouverts d'une membrane blanchâtre d'un aspect cireux (Fig. 1). Les larves au stade pupal encore dans leur enveloppe sucent également la sève et, arrivés à maturité, les insectes émergent de leur enveloppe et commencent à sucer de préférence la sève de la surface inférieure des feuilles tendres.

Après une infestation prolongée par ces mouches, les feuilles deviennent pâles, se chlorosent et se frittent. De telles feuilles sont impropres à la consommation des vers à soie (Fig. 2).

Les oeufs sont de forme ovale et légèrement comprimés selon l'axe surface dorso-ventral. Ils sont de couleur blanc-crème ou jaunâtre-clair (Fig. 1). Les mouches en sortie d'éclosion sont plus ou moins blanches, ont des ailes bien développées et des trompes suceuses proéminentes (Fig. 3, Fig. 4).

Cette mouche blanche appartient au sous-ordre des homoptères et à la famille des Aleyrodidae. Elle est identifiée sous le nom de *Pealius mori* (Takahashi)*. La lecture de la documentation révèle que la présence de *P. mori* sur les feuilles de mûrier n'avait pas été observée jusqu'à présent en Inde. L'existence de cette mouche blanche était connue uniquement à Taïwan et en Thaïlande.

Un complément d'études sur la biologie de cette mouche ainsi que sur les aspects biochimiques des feuilles nourricières infestées et des mesures de lutte sont en cours. Les résultats sur ces données permettront de compléter les informations disponibles sur ce nouveau parasite des feuilles de mûrier.

* C.A.B., International Institute of Entomology, Dept. of Entomology, Londres.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / Bulgarian.

(D) Allemand / German.

(F) Français / French.

(K) Coréen / Korean.

(Pt) Portuguais / 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

Handbook on pest and disease control of mulberry and silkworm.

Manuel de lutte contre les maladies et les parasites du mûrier et du ver à soie.

ANNONYMOUS

1990 United Nation, Economic & Social Commission for Asia & the Pacific, 88 p. (E)

Studies on the polyhedral disease of silkworm, *Bombyx mori* in Jammu and Kashmir State.

Etudes sur la maladie à polyèdres du ver à soie *Bombyx mori* dans les Etats du Jammu et du Cachemire.

CHISHTI M. Z., SCHAF K.A.

1990 Indian Journal of Sericulture, Vol. 29(1), 155-157. (E)

Women-folk behind the golden thread.

Les femmes derrière le fil d'or.

CHOUDHURY S. S.

1989 News & Views, Quar. Bull. CSR & TI., Berhampore, Vol. 4(2), 10-12. (E)

Comparative studies on the prospects of rearing silkworm (*Bombyx mori* L.) during autumn and spring seasons at Faisalabad (Pakistan).

Etudes comparatives sur les perspectives d'élevage de vers à soie (*Bombyx mori* L.) en été et en automne à Faisalabad (Pakistan).

KHAWAJA K. A.

University of Agriculture, Faisalabad, Dept. of Agricultural Entomology, Pakistan.

1989 Thesis, Faisalabad (Pakistan), Library Univ. of Agric., 124 p. (E)

Restoration and development of sericulture in Guangdong province.

Restauration et développement de la sériciculture dans la province de Guangdong.

MAO K-Z.

Silk Company of Guangdong Province, China.

1990 Canye Kexue, Vol. 16(4), 230-232. (C, e)

Suitability of five mulberry species and four silkworm races for the development of silk industry in the Payakumbuh area, West Sumatra.

Adaptabilité de cinq variétés de mûriers et de quatre races de vers à soie pour le développement de l'industrie de la soie dans la région de Payakumbuh, Sumatra occidental.

SAMSIJAH.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan, Bogor, Indonesia.

1985 Forest Research Bulletin (Indonesia), N471, 17-33. (E)

Suitability of mulberry species for pure silkworm races (Ax, Bx, N₁ and N₂) in the Payakumbuh area, West Sumatera (Indonesia).

Adaptabilité des variétés de mûriers pour les races pures de vers à soie (Ax, N₁ et N₂) dans la région de Payakumbuh, Sumatra occidental (Indonésie).

SAMSIJAH.

1988 Forest Research Bulletin, n496, 43-53. (E)

Insect pests of sericulture and their control.

Insectes nuisibles en sériciculture et lutte contre ces parasites.

SHARMA P.P.,

Karnataka State Sericulture Development Inst., Kadaganchi, Karnataka, India.

1989 Pesticides, Vol. 23(12), 19-23. (E)

Some notes on polyvoltin and bivoltin silkworms. / Beberapa catatan mengenai polyvoltin dan bivoltin.

Quelques données sur les vers à soie polyvoltins et bivoltins.

SYAMSIJAH.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan, Bogor, Indonesia.

1987 Sylva Tropika (Indonesia), Vol. 2(1), 33-34. (E)

Silkworm egg production.

Production d'oeufs de vers à soie.

WANG S.

1989 F.A.O. (Rome, Italy), FAO Agric. Services Bulletin, N73/3, p 71. (E)

Mûrier

Mulberry

Some new records of jassids associated with mulberry plants in Kashmir.
Nouvelles données sur des jassidés associés aux plants de mûriers au Cachemire.
ASHRAF KHAN M., NIGHAT M.
1990 Indian Journal of Sericulture, Vol. 29(1), 149-150. (E)

Stability on leaf yield in some selected genotypes of mulberry (*Morus alba* L.).
Stabilité du rendement foliaire chez quelques génotypes sélectionnés de mûrier *Morus alba* L.
BARI M. A., QAIYYUM M. A., AHMED S. U.
Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.
1990 Indian Journal of Sericulture, Vol. 29(1), 88-92. (E, f)

Sandy-loam soils of Andamans are suitable for mulberry cultivation.
Les sols sableux d'Andamans sont propres à la culture du mûrier.
BOSE P.C., MAJUMDAR S. K., SENGUPTA K.
Section of Soil Science and Chemistry, C.S.R. & T.I., Mysore, Karnataka, India.
1990 Indian Farming (India), Vol. 39(11), 8-9. (E)

Comparative studies of different standard mulberry cultivars namely *Morus alba* and *Morus nigra*, etc. by their physico-chemical characteristics under Faisalabad conditions (Pakistan).
Etudes comparatives de différents cultivars de mûriers à savoir *Morus alba* et *Morus nigra*, etc. en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques à Faisalabad au Pakistan.
CHOUDHRY T.
University of Agriculture, Faisalabad, Dept. of Horticulture, Pakistan.
1989 Thesis, Faisalabad, Pakistan, Univ. of Agriculture, 92 p. (E)

Induction of tetraploidy in coichicine induced mutant of mulberry (Morphological and cytological studies in cultivar Kanva-2).
Induction de la tétraploidie chez le mûrier mutant induit par la colchicine (études morphologiques et cytologiques chez le cultivar Kanva-2).
DWIVEDI N.K., SIKDAR A. K., JOLLY M. S., SUSHEELAMMA B. N. *et al.*
Central Sericultural Research and Training Inst., Mysore, India.
1988 Indian Journal of Genetics & Plant Breeding, Vol. 48(3), 305-311. (E)

Effect of growth regulators on the dormancy of mulberry (*Morus alba* L.) winter buds in Tagu, Korea.

Effet des régulateurs de croissance sur la dormance des bourgeons d'hiver du mûrier (*Morus alba* L.) à Tagu en Corée.

EL FEZAZI M., RYU K-S.

1988 *Han'guk Chamsa Hakhoechi*, Vol. 30(2), 75-83. (E)

Relationship between cold resistance of mulberry trees and electrolytic exosmic rate in shoot tissue during dormancy stage.

Relation entre la résistance au froid des mûriers et le taux exosmique électrolytique dans les tissus des pousses au cours de la période de dormance.

GAO Y-J., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 238-240. (C)

On the fruit growth of hybridized combination for mulberry triploid.

La croissance du fruit chez des hybrides de mûriers triploïdes.

GUO Z-X. et al.

The Sericultural Research Institute, Guangdong Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 193-197. (C, e)

Constituents of the Moraceae plants : 11) Components of the root bark of *Morus insignis* Bur.

1) Structures of four new isoprenylated xanthonés, morusignins A, B, C and D.

Constituents des Moracées : 11) Composants de l'écorce de racines chez *Morus insignis* Bur. 1)

Structures de quatre nouvelles xanthonés isoprénylées, les morusignines A, B, C et D.

HANO Y., OKAMOTO T., NOMURA T., MOROSE Y.

1990 *Heterocycles*, Vol. 31, 1345-1350. (E)

***In vitro* propagation through axillary bud multiplication in different mulberry genotypes.**

Propagation de différents génotypes de mûrier par multiplication *in vitro* des bourgeons axillaires.

JAIN A. K., DANDIN S. B., SENGUPTA K.

1990 *Plant Cell Rep.*, Vol. 8(12), 737-740. (E)

Content of lipids and unsaturated fatty acids in mulberry leaves before and after pruning.

Contenus en lipides et en acides gras non saturés des feuilles de mûrier avant et après la taille.

KHASHIMOVA M. A., LAMM G. Y., KUCHKAROV U.

1989 *Shelk (Tashkent)*, Vol. 6, 4-6. (R)

Leaf culture and plant regeneration of different mulberry varieties.

Culture de feuilles et régénération des plants chez différentes variétés de mûriers.

KONG L-W. et al.

The Sericultural Research Institute of Shandong Province, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 198-202. (C, e)

Effects of plant growth substances on organ regeneration from *in vitro* cultured flower buds of mulberry (*Morus alba* L. *Morus bombycis* Koidz.).

Effets des substances de croissance végétales sur la régénération d'organes à partir de cultures *in vitro* de bourgeons de mûriers (*Morus alba* L.; *Morus bombycis* Koidz.).

NAM H. W., MOON J. Y., KIM H.

1988 *Han'guk Chamsa Hakhoechi*, Vol. 30(1), 1-7. (Co)

Mulberry in coastal area.

Les mûriers dans la zone côtière.

NATH SHIV, ROY B.N., SEN S. K

1989 *News & Views, Quar. Bull. CSR & TI, Berhampore*, Vol. 4(2), 13. (E)

Effect of mulberry varieties attacked by the spidermite, *Tetranychus ludeni* Zacher, on the cocoon characters of *Bombyx mori* L. (Race NB-18).

Effet des variétés du mûrier attaquées par *Tetranychus ludeni* Zacher sur les caractères des cocons de *Bombyx mori* L. (race : NB-18).

NEELU MANGIA, NAGESHCHANDRA B. K.

Dept. of Seric., Univ. of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 30-36. (E, f)

Simple freezer storage method of mulberry calluses.

Méthode simple de conservation des callus de mûrier par congélation.

OHNISHI T., YASUKURA H., KIDA Y.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 28-33. (J, e)

Foliar dermatypes in some cultivated varieties of mulberry (*Morus spp.*) and their taxonomic significance.

Dermotypes foliaires chez quelques variétés de mûriers *Morus spp.* et leur signification taxonomique.

PHILIP T., SENGUPTA K., GOVINDAIAH, SURYANARAYANA N.

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

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 72-76. (E, f)

Effect of mulches on soil temperature, soil moisture, growth and leaf yield of mulberry during winter under rainfed condition in West Bengal.

Effet des fumures sur la température et l'humidité des sols ainsi que sur la croissance et le rendement en feuilles de mûrier pendant l'hiver dans le Bengale occidental.

PUROHIT K. M., RAY D., SUBRA RAO G.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, West Bengal.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 64-71. (E, f)

Effect of ammonium chloride on growth and yield of mulberry in comparison with other nitrogenous fertilisers.

Effet de l'utilisation de chlorure d'ammonium sur le rendement et la croissance des mûriers ; comparaison avec d'autres engrais azotés.

SREENIVASA SHETTY N. K., DEVAIAH M. C., SHANKAR M. A.

Dept. of Seric., University of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 101-109. (E, f)

Apical dominance in mulberry (*Morus alba*) : Effects of position of lateral and accessory buds and leaves (correlative inhibition, bud outgrowth).

Dominance apicale chez le mûrier *Morus alba* : Effets de la position des feuilles et des bourgeons latéraux et accessoires (inhibition corrélatrice, débouillage du bourgeon).

SUZUKI T.

Kyoto Univ. Japan, Institute of Technology, Japan.

1990 *Physiologia Plantarum* (Denmark), Vol. 78(3), 468-474. (E)

Effect of silver nitrate and ethylene biosynthetic inhibitors on auxin-induced petiole epinasty of *Morus alba*.

Effet du nitrate d'argent et d'inhibiteurs de la biosynthèse d'éthylène sur la croissance des pétioles induite par l'auxine chez *Morus alba*.

SUZUKI T., FUJIBAYASHI H., KITANO M., KOHNO K.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 2459-2460. (E)

Ethephon-induced petiole epinasty and leaf abscission in mulberry.

La croissance des pétioles et l'abscission des feuilles de mûrier induites par l'éthéphon.

SUZUKI T., FUJIBAYASHI H., KITANO M., KOHNO K.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 2461. (E)

Stomatal abnormalities in mulberry (*Morus L.*).

Anomalies des stomates chez le mûrier *Morus L.*

TOMY PHILIP, GOVINDAIAH, SENGUPTA K.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 153-154. (E)

Changes in proteins, sugars, phenols and total chlorophyll content of mulberry plants affected by "Tukra".

Altérations des contenus en protéines, sucres, phénols, et chlorophylle des mûriers atteints de "Tukra".

UMESH KUMAR N. N., SHREE M. P., MUTHEGOWDA, BORAI AH G.

Department of Sericulture, Bangalore University, P.K. Block, Bangalore 560 009, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 93-100. (E, f)

The changes in the cytokinin contents with the growth of mulberry leaves.

Changements du contenu en cytokinines au cours de la croissance des feuilles de mûrier.

YANAGISAWA Y., SHIOIRI H., YAMASHITA T., OOISHI S.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 75-76. (J)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie

B. mori : rearing, feeding, pathology

Purification of crystals from *Bacillus thuringiensis* by using Percoll.

Purification des cristaux de *Bacillus thuringiensis* à l'aide du Percoll.

BABA F., ASANO S., IIZUKA T.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 487-489. (J)

Studies on the spread of diseases in the rearing of silkworm, *Bombyx mori* L. through different sources of contamination.

Etudes sur la dispersion des maladies dans les élevages de vers à soie *Bombyx mori* L. en fonction des différentes sources de contamination.

BAIG M., NATARAJU B., SAMSON M. V.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 145-146. (E)

Studies on the effect of antibiotics on rearing performance and loss due to diseases in silkworm, *Bombyx mori* L.

Etudes de l'effet des antibiotiques sur le rendement de l'élevage et la perte due aux maladies chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

BAIG M., NATARAJU B., SAMSON M. V.

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

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 54-58. (E, f)

Cytoplasmic polyhedrosis viruses-Reoviridae.

Les reoviridés, virus de la polyédrose cytoplasmique.

BELLONCIK S.

Institut Armand-Frappier, Laval, Quebec, Canada.

1989 *Advances in virus research*, Vol. 37, 173-209. (E)

Influence of photoperiod on emergence, fecundity and fertility in multivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L.

Influence de la photopériode sur l'émergence, la fécondité et la fertilité des souches polyvoltines du ver à soie *Bombyx mori* L.

BENCHAMIN K. V., JESUS, GAPUZ V., JAYARAMARAJU P.

Seed Tech. Lab., Central Sericultural Research & Training Inst. Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 110-118. (E, f)

Effect of pesticides on reproductive biology and rearing of *Bombyx mori*.

Effet des pesticides sur la biologie de la reproduction et l'élevage de *Bombyx mori*.

BENCHAMIN K.V., JAYARAMARAJU P.

1989 *Biol. Mem.*, Vol. 15(3), 147-153. (E)

Fuel reserves in the silkworm, *Bombyx mori* larvae infested with polyhedral bodies.

Réserves combustibles chez les larves du ver à soie infestées par des corps polyédriques.

BHOSALE S. H., KALLAPUR V. L.

Department of Studies in Zoology, Karnataka University, Dharwad, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 83-87. (E, f)

Survey on the structure and heating of silkworm rearing house in Korea.

Etude sur la structure et le chauffage des magnaneries en Corée.

CHOE K. J., LEE D. H., LEE W. Y., LEE S. B., JUNG D. H. *et al*

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.

1990 *The Research Reports of the Rural Development Administ.*, Vol. 32(1), 41-49. (K)

Studies on the effect of different mulberry varieties and seasons on the larval development and cocoon characters of silkworm, *Bombyx mori* L.

Etudes de l'effet des différentes variétés de mûrier et des saisons sur le développement larvaire et les caractères du cocon du ver à soie *Bombyx mori* L.

DAS P.K., VIJAYARAGHAVAN K.

C. S. R. & T. I., Manandavadi Road, Srirampuram, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 44-53. (E, f)

Cocoon melting in popular silkworm (*Bombyx mori*) breeds reared on different mulberry (*Morus sp.*) varieties.

Fusion du cocon chez certaines races communes du ver à soie (*Bombyx mori*) élevées sur des variétés différentes de mûrier (*Morus sp.*).

GIRIDHAR K, SIVARAMI REDDY N., SUBRA RAO M.

C.S.R. & T.I., Srirampuram, Manandavadi Road, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 77-82. (E, f)

Use of genetic parameters for effecting breeding plan of silkworm.

Utilisation de paramètres génétiques pour planifier l'élevage des vers à soie.

GUPTA S. K., DAS S. K., NAIR B. P., SENGUPTA K.

1989 *News & Views, Quar. Bull. CSR & TI, Berhampore, Vol. 4(2), 8. (E)*

Fungicidal action of insecticides and their interaction with fungicides.

Action fongicides des insecticides et leur interaction avec des fongicides.

HABIBULLA KHAN H. A., LINGAPPA S., ANILKUMAR B.

1989 *The Mysore Journal of Agric. Sci., Vol. 23(1), 35-39. (E)*

Mechanism of disaccharide utilization in the midgut of silkworm, *Bombyx mori*, using semisynthetic diets containing chromium (III) oxide as a marker.

Mécanisme d'utilisation des disaccharides dans l'intestin du ver à soie *Bombyx mori* étudié en utilisant un aliment semi-synthétique contenant de l'oxyde chromique comme marqueur.

KANEKATSU R., KITAGAWA R., YANAGISAWA Y.

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

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60(1), 55-61. (J, e)*

Recent research on the nuclear polyhedrosis virus in the silkworm, *Bombyx mori*.

Recherche récente sur le virus de la polyédrose nucléaire chez le ver à soie *Bombyx mori*.

KAWASE S.

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

1990 *J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 59(6), 387-401. (J)*

A monoclonal antibody to *Nosema bombycis* and its use for identification of microsporidian spores.

Un anticorps monoclonal de *Nosema bombycis* et son utilisation pour l'identification de spores de microsporidiens.

KE Z. X., XIE W. D., WANG X. Z., LONG Q. X., PU Z. L.

1990 *J. Invertebrate Pathology, Vol. 56, 395. (E)*

Studies on the cocoon shell transforming rates of the silkworm under different rearing conditions.

Etudes sur les taux de transformation de la coque des cocons du ver à soie sous différentes conditions d'élevage.

LI L. I. *et al.*

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(4), 233. (C)*

Changes of vitamine content in the blood of silkworm larvae poisoned by fluoride or infected by CPV.

Variations de la teneur en vitamines dans le sang des larves de ver à soie empoisonnées par du fluorure ou infectées par du CPV.

LU S-I. *et al.*

Dept. of Seric., & Central Laboratory, Zhejiang Agricultural University, Zhejiang, China.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(4), 203-206. (C, e)*

Studies on the anti streptococcus protein from digestive juice of domesticated silkworm larvae.
Etudes sur la protéine anti-streptocoque provenant du suc digestif des larves du ver à soie domestique.

LU X., JIN W.

1990 *Canye kexue*, Vol. 16(1), 33-38. (C)

The basis DNA binding protein of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. The existence of an additional arginine repeat.

La base de la protéine du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* qui se fixe à l'ADN. Existence d'une répétition supplémentaire d'arginine.

MAEDA S., KAMITA S. G., KATAOKA H.

1991 *Virology*, Vol. 180, 807. (E)

Effect of nitrogen on larval development and silk yield of silkworm, *Bombyx mori* L.

Effet de l'azote sur le développement larvaire et le rendement en soie de *Bombyx mori* L.

MAHMOOD R.

University of Agriculture, Faisalabad, Dept. of Agricultural Entomolgy, Pakistan.

1989 *Thesis, Library, Univ. of Agriculture, Faisalabad, Pakistan*, 107 p. (E).

Influence of media composition on the production of delta-endotoxin by *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*.

Influence de la composition des milieux sur la production d'endotoxine delta chez *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*.

MUMMIGATTI S. G., RAGHUNATHAN A. N.

Central Food Technological Research Institute, Mysore, India.

1990 *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 55(2), 147-151. (E)

Influence of pupal weight on the performance of fecundity, rearing and reeling in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Influence du poids de la chrysalide sur les performances de fécondité, d'élevage et de dévidage chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

NARAYANASWAMY T. K., VISWESWARA GOWDA B. L.

1989 *The Mysore Journal of Agric. Sci.*, Vol. 23(1), 57-61. (E)

Effect on consumption digestion and utilisation of food in larvae of silkworm, *Bombyx mori* L., due to parasitism by uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck.

Parasitisme de la mouche Uzi *Tricholyga bombycis* Beck et ses effets sur la consommation, la digestion et l'utilisation de l'aliment par les larves du ver à soie *Bombyx mori* Linn.

NATH T. N., BISWAS S. N., SEN S. K., SUBRA RAO G.

C. S. R. & T. I., Res. Extension Centre Ambari, Fadakata, Jalpaiguri, West Bengal.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 8-12. (E, f)

***Exoristobia philippinensis* Ashmead, a new record of larval parasite of *Exorista sorbillans* Wiedmann on *Bombyx mori* L.**

Exoristobia philippinensis Ashmead, observation d'un nouveau parasite larvaire d'*Exorista sorbillans* Wiedmann sur *Bombyx mori* L.

RAMKISHORE, PRADIP KUMAR, SINGH B. D., SENGUPTA K.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 151-152. (E)

Effects of mulberry species on larvae appetite, cocoon and filament quality, fecundity and hatchability of silkworm (*Bombyx mori* L.).

Effets des variétés de mûriers sur l'appétit des larves, la qualité de la bave, la fécondité et le pourcentage d'éclosion du ver à soie *Bombyx mori* L.

SAMSIJAH.

1984 *Laporan Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan (Indonesia)*, N457, 1-7. (E)

Effects of silkworm's (*Bombyx mori* L.) food material which was fertilized with urea on cocoon and filament quality.

Effets de l'aliment du ver à soie *Bombyx mori* L. fertilisé avec de l'urée sur le cocon et la qualité de la bave.

SAMSIJAH.

1985 *Buletin Penelitian Hutan (Indonesia)*, N468, 38-53. (In)

Analysis of structural polypeptides of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.

Analyse des polypeptides de structure du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

SHIMIZU S., TAUCHI S., ARAKAWA A.

1991 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 57, 124. (E)

The indian Uzi fly, *Exorista bombycis* - a parasitoid of mulberry silkworm.

La mouche indienne Uzi *Exorista bombycis* - un parasite du ver à soie du mûrier.

SIDDAPPARJI C., CHANNABASAVANNA G. P.

University of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 119-137. (E)

Studies on the relative susceptibility of different breeds of silkworm (*Bombyx mori* L.) to diseases under natural conditions.

Etudes sur la sensibilité relative des différentes souches de vers à soie *Bombyx mori* L. aux maladies en fonction des conditions naturelles.

SINGH B. D., BAIG M., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S. D., et al.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 142-144. (E)

Preliminary investigation on the effects of minerals in the rain water on the growth and reproduction of silkworm, *Bombyx mori* L.

Effets des minéraux dans l'eau de pluie sur la croissance et la reproduction du ver à soie *Bombyx mori* L. Recherches préliminaires.

THANGAVELU K., BANIA H. R.

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Titabar 785-632, Assam, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 37-43. (E, f)

Efficacy of asiphor as a disinfectant against incidence of diseases of silkworm, *Bombyx mori* L.
Efficacité de l'asiphor employé comme désinfectant contre l'incidence des maladies du ver à soie *Bombyx mori* L.

VENKATA REDDY S., SINGH B. D., BAIG M., SENGUPTA K., *et al.*
1990 Indian Journal of Sericulture, Vol. 29(1), 147-148. (E)

The effect of protein content of an artificial diet on protease and antiviral activities of the gut juice of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet du contenu en protéines d'un aliment artificiel sur l'activité protéasique et antivirale du suc digestif du ver à soie *Bombyx mori*.

WATANABE H., NAGATA M., WANG Y.
1990 Appl. Entomol. Zool., Vol. 25(1), 150-152. (E)

Isolation of leaf proteins from silkworm excrements.

Isolement des protéines foliaires des excréments du ver à soie.

XU Y.
1990 Shipin Kexue (Beijing), Vol. 125, 22-24. (C)

Preliminary report on cocoon frame made of bamboo curtain.

Rapport préliminaire sur l'encabannage fait avec des rideaux de bambou.

ZHONG B-L., *et al.*
1990 Canye Kexue, Vol. 16(4), 242. (C)

Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Effect of illuminant time on mate and layings in *Bombyx mandarina*.

Effet de la lumière sur l'accouplement et les pontes chez *Bombyx mandarina*.

CHU J.-M., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 241. (C)

Seasonal variation of occurrence of deformed cocoons of the tasar silk moths *Antheraea mylitta* (Drury) and *Antheraea paphia* L. (Saturniidae) in India.

Variation saisonnière de l'apparition de cocons déformés chez *Antheraea mylitta* (Drury) et *Antheraea paphia* L. (Saturniidae) en Inde.

DASH A. K., NAYAK B. K.

State Sericultural Research Station, Baripada, Orissa, India.

1990 *Journal of the Lepidopterists' Society*, Vol. 44(1), 34-36. (E)

Effects of variable doses of permethrin on *Heliothis zea* (Lepidoptera : Noctuidae) growth and development.

Effets des doses variables de perméthrine sur le développement et la croissance d'*Heliothis zea* (Lepidoptera : Noctuidae).

FOLLETT P.A.

North Carolina State University, Raleigh, NC.

1990 *Journal of Entomological Science, (USA)*, Vol. 25(3), 357-365. (E)

Effect of fortification of potassium iodide and copper sulphate through castor leaf of Eri silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval on economic traits.

Effet de l'apport de iodure de potassium et de sulfate de cuivre par l'intermédiaire des feuilles de castor chez le ver à soie eri *Samia cynthia ricini* Boisduval sur les caractères économiques.

GOVINDAN R., MAGDUM S. B., KRISHNA B. G., MAGDUM V. B.

1989 *The Mysore Journal of Agric. Sci.*, Vol. 23(1), 62-64. (E)

Evaluation of suitable cooking recipe for oak tasar cocoons.

Evaluation d'une recette de cuisson favorable pour les cocons tasar du chêne.

MANNA S. S., TIKOO B. L.

1990 *Indian J. Fibre Text. Res.*, Vol. 15(1), 35-36. (E)

Ultrastructure of the integument of the Japanese tusser, *Antheraea yamamai* Guérin Méneville (Lepidoptera : Saturniidae).

Ultrastructure du tégument du tussor japonais *Antheraea yamamai* Guérin Méneville (Lépidoptère : Saturnidé).

TANAKA K., KOBAYASHI N.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 48-54. (J, e)

Vers à soie : génétique

Silkworm : genetic

Is the egg size determining gene, Esd, on the W chromosome identical with the sex-linked giant egg gene, Ge, in the silkworm.

Le gène Esd, placé sur le chromosome W et déterminant la taille de l'oeuf, est-il identique au gène Ge (oeuf géant) lié au sexe, chez le ver à soie ?

KAWAMURA N.

1990 *Genetica*, Vol. 81, 205. (E)

Baculovirus system containing the firefly luciferase gene for expression in silkworm cells.

Le système baculovirus contenant le gène de la luciférase du ver luisant utilisé pour l'expression dans des cellules du ver à soie.

KOPYLOVA SVIRIDOVA T. N., GORELOVA T. V., KRAUZOVA V. I., et al.

1990 *Dokl. Akad. Navk. SSSR.*, Vol. 312(6), 1507-1510. (R)

Induction of sex-limited cocoon color character by translocation of yellow blood gene Y (II-25.6) onto W chromosome by gamma-irradiation in silkworm, *Bombyx mori*.

Induction de la liaison au sexe du caractère de la couleur du cocon par translocation du gène du sang jaune Y (II-25.6) sur le chromosome W à l'aide des rayons gamma chez le ver à soie *Bombyx mori*.

LEE S. P., KIM S. E., KIM K. M., LEE S. M., LEE H. Z., LEE Y. I.

Rural Development Administration, Suwon, Sericultural Experiment Station, Korea.

1989 *Korean Journal of Breeding*, Vol. 21(3), 219-223. (E)

Genetical studies on kidney-2 mutations in *Bombyx mori*.

Etudes génétiques sur les mutations kidney-2 chez *Bombyx mori*.

LU C., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 234-235. (C)

Characterization of v-sis protein expressed in silkworm larvae using the *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus vector.

Caractérisation de la protéine v-sis exprimée dans les larves du ver à soie à l'aide du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* utilisé comme vecteur.

MORISHITA K., SAKANO K., TAKEDA K., MAEDA S.

1991 *J. of Biochemistry*, Vol. 109, 36. (J)

Microinjections of recombinant DNA into early embryos of the mulberry silkworm *Bombyx mori*.

Micro-injections d'ADN recombinant dans les embryons précoces du ver à soie *Bombyx mori*.

NIKOLAEV A. I., CHKONIYA T. T., SEMENOVA N. A., GENING L. V., et al.

Academy of Sciences of the USSR, Moscow.

1990 *Molecular biology*, Vol. 23(4), 938-947. (E, R)

Silkworm, a genetic tool for human-genome project.

Le ver à soie, une outil génétique pour le projet du génome humain.

RAY I.

1989 *News & Views, Quar. Bull. CSR & TI, Berhampore*, Vol. 4(2), 9. (E)

Spindle shaped 2 and spindle shaped 3, spontaneous mutations allelic to sp located on the 23rd linkage group of *Bombyx mori*.

"Spindle shaped"-2 et "spindle shaped-3", des mutations spontanées alléliques de "sp" situé sur le groupe de linkage 23 chez *Bombyx mori*.

SHIMIZU K., FUJIMORI H., FUJIMAKI T., GAMO T.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 62-65. (J)

Comparative ultrastructure of larval hypodermal cell in normal and oily *Bombyx* mutants.

Ultrastructure comparative de la cellule hypodermale larvaire chez les mutants normaux et translucides de *Bombyx*.

TAMURA T., AKAI H.

National Inst. of Seric. & Entomol. Sci., Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *Cytologia*, Vol. 55, 519-530. (E)

Breeding of new stocks for low-cost artificial diet by introducing polyphagous genes into the silkworm, *Bombyx mori*.

Elevage de nouvelles souches pour une alimentation artificielle à bas prix en introduisant des gènes polyphages chez le ver à soie *Bombyx mori*.

TAMURA T., KANDA T.

National Institute of Seric. & Entomol. Sci., Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1989 *Proc. of the 6th Internatl. Congr. of SABRAO*, 969-972. (E)

Transient expression of chimeric CAT genes injected into early embryos of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*.

Expression transitoire des gènes CAT chimeriques injectés dans les embryons précoces du ver à soie domestiqué *Bombyx mori*.

TAMURA T., KANDA T., TAKIYA S., OKANO K., MAEKAWA H.

National Institut of Seric. & Entomol. Sci., Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *Japan J. Genet.*, Vol. 65, 401-410. (E)

Cloning and determination of the primary sequence of a gene encoding the main heat shock protein (HSP70) of *Bombyx*.

Clonage et détermination de la séquence primaire du gène codant pour la principale protéine de choc thermique (HSP 70) de *Bombyx*.

TITARENKO E. A., LEVIN A. V., KHOLODILOV N.G. *et al.*

1990 *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, Vol. 312(2), 477-480. (R)

Selection of a new tetraploid hybrid combination of silkworm Yuncan 1 x Yuncan 2.

Sélection d'une nouvelle combinaison de vers à soie hybrides tétraploïdes Yuncan 1 x Yuncan 2.

YANG B., CAO D., LU R.

Yunnan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Institute of Seric., China.

1989 *Southwest China Journal of Agric. Sciences*, Vol. 2(2), 67-70. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Purification and characterization of haemagglutinin in the haemolymph of the silkworm *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation de l'hémagglutinine de l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori*.

AMANAI K., SAKURAI S., OHTAKI T.

1990 *Comp. Biochem. and Physiol.*, Vol. 97, 471. (E)

Development and protein synthesis of colleterial glands in the female silkworm, *Bombyx mori*.

Développement et synthèse protéique des glandes collatérales du papillon femelle de *Bombyx mori*.

ARISAWA N., FUGO H.

1990 *Nippon Oyo Dobutsu Konchu Gakkaishi*, Vol. 34(3), 227-235. (J)

Effetti del fenoxycarb a basse concentrazioni sulle larve di *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae)./ Effects of low fenoxycarb concentrations on *Bombyx mori* larvae (Lepidoptera Bombycidae).

Effets des concentrations faibles de fenoxycarbe sur les larves de *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae).

CAPPELLOZZA L., MIOTTO F., MORETTO E.

Istit. Sperim. per la Zool. Agraria, Sezione Bachicoltura, Via dei Colli 18, Padova, Italy.

1990 *Redia*, Vol. 73(2), 517-529. (I)

Purification and some properties of ovarian membrane-binding trehalase in silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et quelques propriétés de la tréhalase liée aux membranes chez le ver à soie *Bombyx mori*.

CUI Y-L., YAMASHITA O.

Shandong Agric. Univ., China. & Lab. of Seric. Science, School of Agric, Nagoya, Japan.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 207-212. (C, e)

Morphology and histology of antennae of eri-silkworm moths, *Philosamia ricini* (Boisd) (Lepidoptera : Saturniidae) - I. Morphological description of antenna with special reference to the sense organs.

Morphologie et histologie des antennes du papillon du ver à soie eri *Philosamia ricini* Boisd. (Lepidoptera : Saturniidae) - I. Description morphologique des antennes et plus particulièrement des organes sensoriels.

EID M. A. A., SALEM M. S., EL-MAASARAWI S.

Division of Economic Entomology, Faculty of Agric., Cairo University, Giza, Egypt.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 13-23. (E, f)

Morphology and histology of antenna of eri-silkworm moths, *Philosamia ricini* (Boisd.) (Lepidoptera : Saturniidae) - II. Histological studies on sense organs of antennae.

Morphologie et histologie des antennes du papillon du ver à soie eri *Philosamia ricini* Boisd. (Lepidoptera : Saturniidae) - II. Etudes histologiques des les organes sensoriels des antennes.

EID M. A. A., SALEM M. S., EL-MAASARAWY S.

Division of Economic Entomology, Faculty of Agric., Cairo University, Giza, Egypt.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 24-29. (E, f)

Polymorphism of chymotrypsin inhibitor from hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Polymorphisme d'un inhibiteur de la chymotripsine de l'hémolymph du ver à soie *Bombyx mori*. FUJII H.

1990 *Kagaku to Seibutsu*, Vol. 28(8), 493-494. (J)

C25 prochirality in the fragmentation reaction catalysed by fucosterol epoxide lyase from the silkworm *Bombyx mori*.

Pouvoir rotatoire du C25 dans la réaction de coupure catalysée par la fucostérol-époxyde-lyase du ver à soie *Bombyx mori*.

FUJIMOTO Y., IKUINA Y., NAGAKARI M., KAKINUMA K., IKEKAWA N.

1990 *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, Vol. 1(7), 2041-2046. (E)

GABAergic control of the release of diapause hormone from the suboesophageal ganglion of the silkworm, *Bombyx mori*.

Contrôle par l'acide gamma-amino-butyrique de la libération de l'hormone de diapause par le ganglion suboesophagien du ver à soie *Bombyx mori*.

HASEGAWA K., SHIMIZU I.

1990 *J. Insect Physiol.*, Vol. 36, 909. (E)

The absorption and distribution of tritiated testosterone in larvae of *Bombyx mori*.

L'absorption et la distribution de testostérone tritiée dans les larves de *Bombyx mori*.

HE S., WAN J., XIANG Z.

1990 *Kunchong Xuebao*, Vol. 33(2), 129-135. (C)

Disaccharase activities in the peritrophic membrane of the silkworm, *Bombyx mori*.

Activités disaccharase dans la membrane péritrophique du ver à soie *Bombyx mori*.

KANEKATSU R., KITAGAWA R., IGETA K.

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

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 480-486. (J, e)

Prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. Amino acid sequence and dimeric structure.

Hormone prothoracicotrope du ver à soie *Bombyx mori*. Séquence des acide aminés et structure dimérique.

KATAOKA H., NAGASAWA H., ISOGAI A., ISHIZAKI H., SUZUKI A.

1991 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 55, 73. (E)

Connective tissue strands anchoring fat-body lobes in the silkworm, *Bombyx mori*.

Fibres de tissu conjonctif adhérents aux lobes du corps adipeux du ver à soie *Bombyx mori*.

KATO Y., KAWAI N.

Department of Biology, International Christian University, Mitaka, Tokyo 181, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 416-420. (E)

Amino acid sequence of pheromone biosynthesis activating neuropeptide-II (PBAN-II) of the silkworm, *Bombyx mori*.

Séquence en acides aminés du neuropeptide-II activant la biosynthèse de phéromone (PBAN-II) chez le ver à soie *Bombyx mori*.

KITAMURA A., NAGASAWA H., KATAOKA H., ANDO T., SUZUKI A.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 2495. (E)

1,5-disubstituted imidazoles - novel insect growth regulators.

Imidazoles 1,5-disubstitués - nouveaux régulateurs de croissance d'insectes.

KUWANO E.

1990 *Dojin News*, Vol. 53, 3-8. (J)

Intermediate experiment to produce amino acid composition from silkworm pupa.

Expérience intermédiaire pour produire des acides aminés à partir de la chrysalide du ver à soie.

LI W., WANG W., WANG S., HE J.

1990 *Xibei Daxue Xuebao Ziran Kexueban*, Vol. 20(1), 49-53. (C)

Interaction of a glutamyltranspeptidase from eri-silkworm midgut with different substrates and its possible physiological role.

Interaction d'une glutamyltranspeptidase de l'intestin moyen du ver à soie eri avec différents substrats et son rôle physiologique possible.

LIN H., CHEN D., YIN M., ZHU X.

1990 *Kunchong Xuebao*, Vol. 33(2), 136-142. (C)

Replication of a nuclear polyhedrosis virus in the BM-N cell line of the silkworm, *Bombyx mori*.
 Réplication d'un virus de la polyédrose nucléaire dans la lignée cellulaire BM-N du ver à soie *Bombyx mori*.

LIN Y. Q., IWASHITA Y.

Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya, Tochigi 321, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 452-460. (J, e)

Induction and extraction of lysozyme from the Chinese oak silkworm pupae.

Induction et extraction de lysozyme chez la nymphe du ver à soie du chêne chinois.

LU J-Q., CHEN F-Z., HUANG Z-R.

South China Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 213-218. (C, e)

Vitellogenin synthesis and translocation in *Antheraea pernyi*.

Synthèse et translocation de la vitellogénine chez *Antheraea pernyi*.

LU M-X., TENG X-Y., YANG C-S., ZHANG Y-C., XU Q-M.

Shenyang Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 219-224. (C, e)

Structure and synthesis of bombyxin. IV-a brain peptide of the silkworm *Bombyx mori*.

Structure et synthèse de la bombyxine. IV-un peptide du cerveau du ver à soie *Bombyx mori*.

MARUYAMA K., NAGASAWA H., SOGAI A., TAMURA S., ISHIZAKI H., SUZUKI A.

1989 *Pept. Chem.*, (1989, publié 1990), Vol. 27, 251-256. (E)

Functional diversity of a neurohormone produced by the suboesophageal ganglion : molecular identity of melanization and reddish coloration hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide.

Diversité fonctionnelle d'une neurohormone produite par le ganglion sous-oesophagien : identité moléculaire entre l'hormone de mélanisation et de coloration rougêatre et le neuropeptide activant la biosynthèse de phéromone.

MATSUMOTO S., KITAMURA A., NAGASAWA H., KATAOKA H., ORIKASA C. *et al.*

1990 *J. JP.*, Vol. 36, 427-432. (E)

Developmental change of bombyxin content in the brain of the silkworm *Bombyx mori*.

Modification du contenu en bombyxine dans le cerveau du papillon *Bombyx mori* au cours du développement.

MIZOGUCHI A., HATTA M., SATO S., NAGASAWA H., SUZUKI A., ISHIZAKI H.

1990 *J. of Insect Physiol.*, Vol. 36, 655. (E)

A study on the ejaculation of the silk moth (*Bombyx mori* L.)

Etude sur l'éjaculation du papillon *Bombyx mori* L.

MLADENOV G.

Opitna Stantsiya po Bubarstvo, Vratsa, Bulgaria.

1990 *Animal Science*, Vol. 27(4), 77-79. (B, e)

Soluble tyrosinases from pharate pupal integument of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* L.

Tyrosinases solubles du tégument pré-pupal du ver du tabac *Manduca sexta* L.

MORGAN T. D., THOMAS B. R., YONEKURA M., CZAPLA T. H., *et al.*

Kansas State University, Manhattan, KS.

1990 *Insect Biochemistry*, Vol. 20(4), 251-260. (E)

Effects of nutrition on storage protein concentrations in the larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets de la nutrition sur les concentrations de la protéine de stockage dans l'hémolymphe larvaire du ver à soie *Bombyx mori*.

NAGATA M., KOBAYASHI J.

Lab. of Seric. Sci., Faculty of Agric., University of Tokyo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 469-474. (E)

Quantitative changes in storage proteins during larval development of the silkworm, *Bombyx mori*.

Variations quantitatives des protéines de stockage au cours du développement larvaire du ver à soie *Bombyx mori*.

NAGATA M., KOBAYASHI M.

Lab. of Seric. Sciences, Faculty of Agric., Univ. of Tokyo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 461-468. (E)

Changes in activities of glycosidases in the hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, during larval development.

Variations des glucosidases dans l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori* au cours du développement larvaire.

NAKAYAMA S., FUJII S., YAMAMOTO R.

Laboratory of Biology, Tezukayama College, Gakuenminami, Nara 631, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 443-451. (E)

Hormonal control of induction and termination of diapause in *Pieris rapae* L.

Contrôle hormonal de l'induction et de la terminaison de la diapause chez *Pieris rapae* L.

PARK K. D., KIM H. R.

Korea University, Seoul, Department of Biology, Korea.

1989 *The Korean Journal of Zoology*, Vol. 32(1), 1-8. (K, e)

5-L-oxoprolinase in *Bombyx mori* and the effects of juvenile hormone analog ZR-512.

La 5-L-oxoprolinase chez *Bombyx mori* et les effets de l'analogue d'hormone juvénile ZR-512.

PENG J., XU T.

1990 *Kunchong Xuebao*, Vol. 33(2), 143-148. (C)

In vitro eclosion hormone synthesis and secretion in the brain-retrocerebral complexes of the silkworm, *Bombyx mori*.

Synthèse et sécrétion de l'hormone d'éclosion *in vitro* dans les complexes rétrocérébraux du ver à soie *Bombyx mori*.

SAKAKIBARA M., FUGO H.

1990 *J. Insect. Physiol.*, Vol. 36, 489. (E)

***In vitro* transcription of the plasma protein genes of *Bombyx mori*.**

Transcription *in vitro* des gènes des protéines de l'hémolymphe de *Bombyx mori*.

SAKURAI H., IZUMI S., TOMINO S.

1990 *Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 1087, 18. (E)

Radiation sensitivity of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Sensibilité du ver à soie *Bombyx mori* aux radiations.

SINGH R., NAGARAJU J., VIJAYRAGHAVAN K., PREMALATHA V.

Central Sericultural Research and Training Inst., Mysore 570 006, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 1-7. (E, f)

The effect of oral administration of a juvenoid to the last instar larva of *Philosamia ricini* Hutt (Lepidoptera : Saturniidae).

Effet de l'administration orale d'un juvénoïde chez les larves de *Philosamia ricini* Hutt (Lepidoptera : Saturniidae) au cours du dernier stade larvaire.

SINGH T.

Regional Seric. Research Station, Koraput, Post Box No 9, Dist. Koraput, Orissa, India.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1) 59-63. (E, f)

Changes in urea in the haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori* in the 4th and the 5th larval instars and effect of starvation in the 5th instar on the level of urea in the pharate adult.

Modifications de l'urée dans l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori* aux 4ème et 5ème âges larvaires et effet du jeûne au 5ème âge sur le taux d'urée chez le pré-adulte.

SUMIDA M., YAMADA Y., TANAKA Y., SHIMABUKURO J., OHNISHI M., MORI H.

1990 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 97, 373. (E)

Changes in kinetic parameters and total activity of midgut sucrase in the silkworm, *Bombyx mori*, during larval-pupal-adult development.

Variations des paramètres cinétiques et de l'activité totale de la sucrase de l'intestin moyen chez le ver à soie *Bombyx mori* au cours du développement larvaire, nymphal et adulte.

SUMIDA M., YUAN X-L., MAH Y., MORI H., MATSUBARA F.

1990 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 96, 605. (E)

Cell culture of the antennal imaginal disc of the silkworm, *Bombyx mori* L. and differentiation of neurons from the culture.

Culture de cellules de disque imaginal de l'antenne du ver à soie *Bombyx mori* L. et différenciation des neurones dans la culture.

WAKU Y., KOIKE M., YOSHIDA N.

1990 *Zoological Science*, Vol. 7, 613. (E)

Purification, properties, and titer of a hemolymph trophic factor in larvae and pupae of *Manduca sexta*.

Purification, propriétés et titre d'un facteur trophique de l'hémolymph chez les larves et les chrysalides de *Manduca sexta*.

WIELGUS J. J., CALDWELL G. A., NICHOLS R. L., WHITE C. F.

Washington and Lee University, Lexington, VA. U.S.A.

1990 *Insect Biochemistry*, Vol. 20(1), 65-72. (E)

Investigation on the enhancement of the efficiency of transferring diet into silk by domestic silkworm. V-Increase silk production by treatment with JHA-methoprene.

Investigation sur l'amélioration de l'efficacité de la transformation de la nourriture en soie par le ver à soie domestique. V-Accroissement de la production de soie avec le methoprène.

XU J.

Zhejiang Agricultural Univ., Hangzhou, China.

1989 *Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(3), 118-123. (C)

Production of recombinant sarcotoxin IA in *Bombyx mori* cells.

Production de sarcotoxine IA recombinante dans des cellules de *Bombyx mori*.

YAMADA K., NAKAJIMA Y., NATORI S.

1990 *Biochemical J.*, Vol. 272, 633. (E)

Isolation of three species of soluble sucrase from larval midgut of the silkworm, *Bombyx mori* and some kinetic properties.

Isolement de trois espèces de sucrares solubles provenant de l'intestin larvaire du ver à soie *Bombyx mori* et étude de quelques propriétés cinétiques.

YUAN X. L., MORI H., MATSUBARA F., SUMIDA M.

1990 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 97, 183. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworm : eggs, embryology

Chymotrypsin inhibitors in haemolymph and eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, developmental changes in inhibitory activity.

Inhibiteurs de chymotrypsine dans l'hémolymph et les oeufs du ver à soie *Bombyx mori* ; modification de l'activité inhibitrice au cours du développement.

ARATAKE H., DENG K. R., FUJII H., KAWAGUCHI Y., KOGA K.

1990 *Compl. Biochem. Physiol.*, Vol. 97, 205. (E)

Activity and molecular heterogeneity of NAD⁺-kinase in silkworm ontogenesis.

Activité et hétérogénéité moléculaire de la NAD⁺-kinase au cours de l'ontogenèse du ver à soie.

FILIPPOVICH S. Y., AFANAS'EVA T. P., IVANOV V. G., KRIJSKII M. S.

1990 *Ontogenez*, Vol. 21(2), 145-152. (R)

Expression of a silkworm eclosion hormone in yeast.

Expression d'une hormone d'éclosion du ver à soie chez la levure.

HAYASHI H., NAKANO M., SHIBANAKA Y., FUJITA N.

1990 *B.B.R.C.*, Vol. 173, 1065. (J)

Purification and characterization of a cysteine proteinase from silkworm eggs.

Purification et caractérisation d'une protéase à cystéine à partir des oeufs du ver à soie.

KAGEYAMA T., TAKAHASHI S. Y.

1990 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 193, 203-210. (E)

Cold acid treatment of bivoltine hybrid silkworm eggs, *Bombyx mori* for tropical country.

Traitement à l'acide froid des oeufs du ver à soie hybride bivoltin *Bombyx mori* pour les régions tropicales.

MANJULA A., HURKADLI H. K.

1990 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 29(1), 138-141. (E)

Comparison of egg and embryo proteins and a trial to detect proteolytic activities in eggs of *Bombyx mori*.

Comparaison des protéines de l'embryon et de l'oeuf et essai pour détecter les activités protéolytiques dans les oeufs de *Bombyx mori*.

SUGIMOTO Y., SAITO A., KOSEGAWA E., KOGA K., FUJII H.

1990 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 96, 253. (E)

Comparative studies on amino acids of chorion proteins in hybrid of *Bombyx mori* and *Philosamia cinthia ricini*.

Etudes comparatives sur les acides aminés des protéines du chorion chez l'hybride de *Bombyx mori* et *Philosamia cinthia ricini*.

SUN F., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 240. (C)

Control mechanism of diapause of the pharate 1st instar larvae of the silkworm *Antheraea yamamai*.

Mécanisme de contrôle de la diapause chez les prélarves du papillon *Antheraea yamamai*.

SUZUKI K., MINAGAWA T., KUMAGAI T., NAYA S. I., ENDO Y., OSANAI M.

1990 *J. Insect Physiol.*, Vol. 36, 855. (E)

Non uniform evolution of duplicated developmentally controlled chorion genes in silkworm.

Evolution non uniforme des gènes dupliqués du chorion sous le contrôle du développement chez le papillon.

TSITILLOU S. G., KAFATOS F. C.

1989 *J. Molec. Evol.*, Vol. 29, 396-406. (E)

Effects of feeding fluoride polluted mulberry leaves on the production and quality of silkworm eggs.

Effets du nourrissage avec des feuilles de mûriers polluées de fluorures sur la production et la qualité des oeufs de vers à soie.

WANG J., XU H., WANG J.

1990 *Zhongguo Huanjing Kexue*, Vol. 10(2), 103-109. (C)

Preliminary report on the induction of silkworm parthenogenesis by laser beam.

Rapport préliminaire sur l'induction de la parthenogenèse chez le ver à soie à l'aide d'un rayon laser.

XU H-R., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 236-238. (C)

Effect of low temperature on NAD sorbitol dehydrogenase activity and morphogenesis in non-diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet d'une température basse sur l'activité NAD-sorbitol-déshydrogénase et la morphogénèse chez les oeufs non-diapausants du ver à soie *Bombyx mori*.

YAGINUMA T., KOBAYASHI M., YAMASHITA O.

1990 *Comp. Biochem. & Physiol.*, Vol. 97, 495. (E)

The effect of low level ionizing radiation on embryogenesis of silkworm, *Bombyx mori*.

Effet d'un faible taux de radiation ionisante sur l'embryogénèse du ver à soie *Bombyx mori*.

YUSIFOV N. I., KUZIN A. M., AGAEV F. A., ALIEVA S. G.

1990 *Radiation & Environmental Biophysics*, Vol. 29, 323. (E)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Stimulation of fibroin synthesis elicits ultrastructural shifts in the Golgi complex of secretory cells.

La stimulation de synthèse de fibroïne provoque des changements ultrastructuraux dans l'appareil de Golgi des cellules sécrétrices.

PLAZAOLA A., CANDELAS G. C.

1990 *PRHSJ.*, Vol. 9(3), 227-229. (E)

Cloning of DNA fragments containing alanine tRNA sequences from a spider genome.

Clonage de fragments d'ADN contenant des séquences d'alanine-tRNA provenant du génôme d'une araignée.

RIVERA R., LUCIANO E., CANDELAS G. C.

1990 *PRHSJ.*, Vol. 9(3), 221-225. (E)

Primary structure of *Antheraea* fibroin estimated from nucleotide sequence of the gene.

Structure primaire de la fibroïne d'*Antheraea* d'après la séquence nucléotidique du gène.

TAMURA T., KANDA T.

Nat. Inst. of Seric. and Ent. Sci., Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1989 *Proc. of the 6th Internatl. Congr. of SABRAO*, 933-936. (E)

Soie

Silk

Studies on the sorption and permeation of acid dyes through silk fibroin membrane. 1) The structure of silk fiber and fibroin membrane.

Etudes sur la rétention et la perméabilité des colorants acides filtrés à travers une membrane de fibroïne de soie. 1) Structure de la fibre de soie et de la membrane de fibroïne.

BAE D. G., TAK T. M.

1988 *Han'guk Chamsa Hakhocchi* 30(2) 105-111. (A)

Enzymatic properties of lipase immobilized on silk fibroin membrane and its membrane potential with the enzyme reaction.

Propriétés enzymatiques d'une lipase immobilisée sur une membrane de fibroïne et potentiel de membrane obtenu avec la réaction enzymatique.

DEMURA M., KOMURA T., HIRAIDE T., ASAKURA T.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(9), 391-396. (J)

Molecular mechanism of spider silk elasticity.

Mécanisme moléculaire de l'élasticité de la soie d'araignée.

DONG Z. Y., LEWIS R. V., MIDDAUGH C. R.

1991 *Arch. Biochem Biophys*, Vol. 284, 53. (E)

Molecular cleavage of silk fibroin by an aqueous solution of lithium thiocyanate.

Coupure moléculaire de la fibroïne par une solution aqueuse de thiocyanate de lithium.

GOTO Y., TSUKADA M.

Nat. Inst. of Seric. & Entomol. Science, Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 402-409. (J, e)

Estimation of reelability percentage. I-Estimation based on the number of unexpected dropping ends of N cocoons.

Estimation du pourcentage de dévidabilité. I-Estimation basée sur le nombre de bouts libres chez N cocons.

GUOLIANG SHOU.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 6-13. (J, e)

Estimation of reelability percentage. II-Estimation based on the number of non-broken filaments of N cocoons.

Estimation du pourcentage de dévidabilité. II-Estimation basée sur le nombre de filaments non cassés chez N cocons.

GUOLIANG SHOU.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 13-22. (J, e)

Physical properties of silk sericin expected from cocoon shells of silkworm varieties with different values of sericin solubility.

Propriétés physiques attendues de sérícines tirées de cocons de vers à soie ayant des taux différents de solubilité de la sérícine.

HAGA A., TUKADA M., YASUMURA S., AOKI H.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 23-27. (J, e)

Gelation of silk fibroin.

Gélification de la fibroïne de soie.

HIRABAYASHI K., AYUB Z. H., KUME Y.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(11), 521-524. (E)

Heat stability of catalase immobilized on silk fibroin by freezing.

Thermorésistance de la catalase immobilisée sur la fibroïne de soie par congélation.

HIRAIDE S.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 490-491. (J)

Size distribution and constitution of neps in the silk card silver from *Bombyx mori*.

Distribution de la taille et constitution de bouchons dans la soie cardée *Bombyx mori*.

IMAI T., TSUBOUCHI K.

1990 *The Journal Seric. Science Japan*, Vol. 59(5), 355-359. (J, e)

Effect of chitosan treatment on color fastness properties of silk fabrics dyed with various dyes in a neutral dyebath.

Effet du traitement au chitosan sur la vitesse de coloration des tissus de soie teints avec divers colorants dans un bain de teinture neutre.

KAKO T., KATAYAMA A.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 66-68. (J)

Wearing test for silk-knitted fabrics treated by salt-shrinking, dispersion of fibers and resin-curing.

Test de résistance des tissus de soie tricotés soumis à la rétraction par le sel, à la dispersion des fibres et aux traitements à la résine.

KATO H.

National Institute of Sericultural & Entomological Science, Tsukuba Ibaraki 305, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 438-442. (J, e)

Studies on the development of silk twisted yarns for knitted fabric. (IV) Physical properties of silk yarns treated by salt-shrinking, dispersion of fibers and resin-curing.

Etudes sur le développement des fils de soie tordus pour les tissus tricotés. (IV) Propriétés physiques des fils de soie soumis à la rétraction par le sel, à la dispersion des fibres et aux traitements à la résine.
KATO H.

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

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 429-437. (J, e)

Studies on the development of silk twisted yarns for knitted fabric. (VI) Structural changes of the silk yarn subjected to salt-shrinking dispersion of fibers and resin-curing.

Etudes sur le développement des fils de soie tordus pour les tissus tricotés. (VI) Changements structuraux des fils de soie soumis à la rétraction par les sels, à la dispersion des fibres et au traitement à la résine.

KATO T.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 34-47. (J, e)

Study of heat yellowing and brittleness of real silk fabric.

Etude du jaunissement et de la fragilité d'un tissu de soie traité par la chaleur.

LEE M.

1990 *Fangzhi Xuebao*, Vol. 11(4), 148-151.

Effects of some fixatives on sericin fixation of raw silk.

Effets de certains fixateurs sur la fixation de la sérécine de la soie grège.

LEE Y. W., SONG K. E., CHUNG I. M., LEE K. G.

Rural Development Administration, Sericultural Experiment Station, Suwon, Korea.

1990 *The Research Reports of the Rural Development Administ.*, Vol. 32(1), 68-73. (K)

Effect of solvent component on mechanical properties of silk fibroin membrane.

Effet d'un dissolvant sur les propriétés mécaniques d'une membrane de fibroïne de soie.

LIANG C. X., HIRABAYASHI K.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(5), 181-185. (J)

Studies on the factors affecting tensile strength and breaking elongation of raw silk.

Etudes sur les facteurs affectant l'élasticité et la résistance à la traction de la soie grège.

LIU D-K., YE X-Y., WU S-C.

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

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 225-229. (C, e)

Dyeing of silk containing sericin fixed by dialdehyde starch.

Teinture de la soie contenant de la sérécine fixée par dialdéhyde d'amidon.

MASAHIRO YANO., KOUZO YASUDA.

1991 *Bull. of Research Inst. for Polymers & Textiles*, Vol. 164, 1-8. (J,e)

Fotodegradazione della seta tinta con coloranti acidi./ Photodegradation of dyed silk with acid dyes.

Photodégradation de la soie teinte avec des colorants acides.

MASSAFRA M. R., COLONNA G. M., BIANCHI SIVILOKOS A.

Stazione Sperimentale per la Seta, Milano.

1990 *La Seta*, Vol. 43(2), 5-8. (I, e, f)

Fitting models to the movement of the orifice in the spinning of silkworms.

Modèles de mouvement de l'orifice de filage des vers à soie.

MIURA M., NISHIOKA T., SUGIURA A., SHIMAZAKI A.

Faculty of Textile Science, Shishu University, Tokida, Ueda 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 421-428. (E)

Small angle X-ray scattering of native silk fibroin in a silk gland and of dilute aqueous solution of silk fibroin.

Balayage par des rayons-X sous faible incidence de la fibroïne native dans la glande séricigène et dans une solution aqueuse.

NAGURA M., HIRAGI Y., KAJIWARA K., TSUKADA M.

Faculty of Textile Sci. & Tech., Shinshu Univ., Ueda, Nagano 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 475-479. (J, e)

pH and hardness effects on sericin solubility result from total carbonate concentration.

Les effets du pH et de la dureté sur la solubilité de la sérécine proviennent de la concentration totale en carbonate.

NAM Y. R., CHAE D. S., SUNG J. C.

1989 *Han'guk Chamsa Hakhoechi*, Vol. 31(2), 121-126. (Co)

Water and its effect on silk reeling.

L'effet de l'eau sur le dévidage de la soie.

SENGUPTA D., PATIL M. G., CHAKRABORTY A.

1989 *News & Views, Quarterly Bull. of CSR & TI., Berhampore*, Vol. 4(2), (E)

Activity of water in raw silk threads in relation to rereeling agents.

Activité de l'eau sur les fils de soie grège en fonction des agents utilisés pour le reflottage.

SHIGEMATSU M.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture & Tech., Koganei, Tokyo 184, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 410-415. (J, e)

Proposal for the improvement of silk rereeling machines ventilation.

Proposition pour l'amélioration de la ventilation des machines de reflottage de la soie.

SHIGEMATSU M.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 69-71. (J)

Results of the trial production of rewinding agents.

Résultats d'essais de production d'agents de rebobinage.

SHIGEMATSU M.

1991 The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60 (1), 72-74. (J)

Physical properties of byssus of *Atrina pectinata japonica*.

Propriétés physiques du byssus d'*Atrina pectinata japonica*.

TSUKADA M., GOTO T., ISHIKAWA H.

1991 The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60(1), 1-6. (E)

Structure of a protein superfiber : spider dragline silk.

Structure d'une "super" fibre protéique : la soie d'araignée.

XU M., LEWIS R.

1990 P.N.A.S., Vol. 87, 7120-7124. (E)

Extraction of L-serine and serinol from waste liquor of boiled silkworm cocoons.

Extraction de L-sérine et de sérinol à partir du liquide de cuissons des cocons de ver à soie.

ZHANG C., YANG Z.

1990 Huaxue Shijie, Vol. 31(4), 185-187. (C)

Directeur Gérant : Dr Henri BOUVIER

Dépot légal : 2e trimestre 1991

CHARVET IMPRIMEURS - 78 89 60 38