

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

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

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION **EDITORIAL BOARD**

BEAULATON J. (France)
BECK D. (France)
BOSQUET G. (France)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / India)
DATTA R.K. (Inde / India)
DOIRA H. (Japon / Japan)
FONSECA T.C. (Brésil / Brazil)
FOURCHE J. (France)
FREDDI G. (Italie / Italy)
GOLDSMITH M.R. (USA)
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 / India)
PERSOONS C.J. (Pays-Bas / Netherlands)
PRUDHOMME J-C. (France)
REALI G. (Italie / Italy)
SHIMURA K. (Japon / Japan)
SHIRATA A. (Japon / Japan)
SONWALKAR T.N. (Inde / India)
TAKAHASHI R. (Brésil / Brazil)
TAZIMA Y. (Japon / Japan)
VAGO C. (France)
VEY A. (France)
XIA J-G. (Chine / China)
YAMASHITA O. (Japon / Japan)

SOMMAIRE - CONTENTS

Informations CSI : Statistiques / ISC announcements : Statistiques i-v

Articles originaux / Original papers

Studies on the Kenchu virus of the silkworm, *Bombyx mori* L. : II. Purification and properties of Bng-KV II virus 369
 Etudes sur le virus de Kenchu chez le ver à soie *Bombyx mori* L. : II. Purification et propriétés du virus Bng KV II 379
 C.S. PATIL, K.D. SPENCE, S. GURUSIDDAIAH, T.R. KYRIAKIDES & S.B. DANDIN

Effect of the application of juvenile hormone analogue in IV instar followed by thyroxine in the Pure Mysore breed of *Bombyx mori* (L.) 385
 Effet d'applications d'un analogue d'hormone juvénile au quatrième âge suivies d'applications de thyroxine chez la souche Pure Mysore de *Bombyx mori* (L.) 391
 S.B. MAGADUM, M.A. HOOLI & V.B. MAGDUM

Effect of feeding copper sulphate on the economic parameters of the polyvoltine silkworm, *Bombyx mori* L. 395
 Effet du nourrissage avec du sulfate de cuivre sur les paramètres économiques du ver à soie polyvoltin (*Bombyx mori* L.) 401
 S.B. MAGDUM, M.A. HOOLI & V.B. MAGDUM

Effect of 1-triacontanol and "Fasal" on the growth and yield of mulberry, *Morus alba*, and *Bombyx mori* 405
 Effet du 1-triacontanol et du "Fasal" sur la croissance et le rendement du mûrier *Morus alba* et de *Bombyx mori* 411
 R.F. ANKALGI & M.F. ANSARI

Effects of parasitism by *Blepharipa zebina* Walk. on the growth and development of *Antheraea mylitta* Drury 415
 Effet de l'infestation par *Blepharipa zebina* Walk. sur la croissance et le développement d'*Antheraea mylitta* Drury 421
 K.C. MANDAL, R.N. SINGH, B.N. BRAHAMACHARI & S.S. SINHA

Genetic divergence in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. 425
 Divergence génétique chez le ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D. 433
 A.A. SIDDIQUI, S.N. CHATTERJEE, A.K. GOEL & A.K. SENGUPTA

Effect of ringing and auxins on the vegetative propagation of foliated cuttings of Som (*Machilus bombycina* King) (Laurales : Lauraceae) 437
 Effet du découronnement et des auxines sur la reproduction végétative de Som (*Machilus bombycina* King) (Laurales : Lauraceae) 443
 G.S. YADAV & B.C. GOSWAMI

Studies on the foliar constituents of Som (*Machilus bombycina* King) and Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) 447
 Etude sur les constituants foliaires de Som (*Machilus bombycina* King) et Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) 453
 G.S. YADAV & B.C. GOSWAMI

Potentials of propagation through leaf bud cuttings of Som, <i>Machilus bombycina</i> King (Lauraceae)	457
Potentiels de multiplication de Som, <i>Machilus bombycina</i> King (Lauraceae), par bouturage herbacé	465
M. DEVNATH, MD. ISA, M.V. SAMSON, A.K. SENGUPTA & RAJARAM	

Genetic diversity in half sib-seedlings of <i>Terminalia arjuna</i> Bedd.	469
Diversité génétique chez des plantules parentes de <i>Terminalia arjuna</i> Bedd.	477
P.K. SRIVASTAV, A.A. SIDDIQUI & A.K. GOEL	

Effect of twist on the dynamometric properties of raw silk yarns	481
Effet de la torsion sur les propriétés dynamométriques des fils de soie grège	487
T.N. SONWALKAR, S. ROY & B.V. VASUMATHI	

Notes brèves / Brief notes

Field studies on the incidence of uzifly infestation in relation to different larval stages of the silkworm	491
Etudes sur le terrain de l'incidence de l'infestation par la mouche uzi en fonction des différents stades larvaires du ver à soie	493
PRADIP KUMAR & K. SENGUPTA	

Parasites of the uzifly, <i>Exorista sorbillans</i> Wiedemann (Diptera : Tachinidae).	495
XIV. Biology of <i>Nesolynx thymus</i> (Girault)	497
Parasites de la mouche uzi <i>Exorista sorbillans</i> Wiedemann (Diptera : Tachinidae).	497
XIV. Biologie de <i>Nesolynx thymus</i> (Girault)	497
PRADIP KUMAR, O.K. REMADEVI, RAM KISHORE & K. SENGUPTA	

Improved egg-laying device in <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera : Saturniidae)	499
Matériel amélioré pour la ponte chez <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera : Saturniidae)	505
B.R.R. Pd. SINHA, M.K. SINGH, P.R.T. RAO, P. TEWARI, M.M. ALAM, S.S. SINHA & K. SENGUPTA	

Effect of using some food adjuncts with the larval diet on moth weight, fecundity and egg hatchability in <i>Antheraea mylitta</i> (Saturniidae : Lepidoptera)	507
Effet de l'utilisation de certains additifs alimentaires à la nourriture des larves sur le poids des papillons, la fécondité et l'éclosion des oeufs chez <i>Antheraea mylitta</i> (Saturniidae : Lepidoptera)	511
KUMARI LALITA, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA	

A note on the occurrence and inheritance of foliaceous stipules in mulberry	513
Note sur la présence et la transmission héréditaire des stipules foliacées chez le mûrier	515
R. KUMAR, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, S.R. RAMESH, GARGI & M.S. JOLLY	

Control of nematode infestation in mulberry fields	517
Lutte contre l'infestation des mûraies par les nématodes	521
J. SARKAR, S. SARKAR, B.K. DAS, P.K. MISTRI, A.K. SAHAKUNDU & K. SENGUPTA	

Studies on the germination behaviour and longevity of Som (<i>Machilus bombycina</i>) seeds	523
Etudes sur la germination et la longévité des graines de Som (<i>Machilus bombycina</i>)	527
RAJA RAM, A.K. SENGUPTA & M. DEVNATH	

A new host plant of the muga silkworm, <i>Antheraea assama</i> Ww.	529
Une nouvelle plante hôte du ver à soie muga <i>Antheraea assama</i> Ww.	531
A. BARAH, MD. ISA, M. DEVNATH & M.V. SAMSON	

Statistiques 1991

La CSI tentera dorénavant de publier chaque année des statistiques de production et d'échanges concernant les cocons et la soie grège.

Il ne s'agit pas de fournir des statistiques déjà publiées par ailleurs (par l' AIS en particulier). Notre objectif est de fournir des données complémentaires qui sont, pour le moment, difficiles à trouver. Par exemple, les exportations et les importations de cocons, les prix des cocons. Surtout, nous espérons pouvoir établir, au cours du temps, une liste exhaustive des pays producteurs de cocons et de soie grège, en incluant tous les petits producteurs.

Ce premier essai, concernant l'année 1991, met en évidence la difficulté à obtenir les renseignements souhaités. Nous avons interrogé, par les circuits officiels, plus de 50 pays. Moins de la moitié a répondu et certaines réponses sont incomplètes.

Nous espérons cependant, qu'après cette tentative, l'intérêt suscité par ces statistiques permettra d'obtenir les données plus facilement dans l'avenir.

Gérard CHAVANCY
Secrétaire général de la
Commission séricicole internationale

1991 Statistics

From now on, the ISC will attempt to publish production and trade statistics concerning cocoon and raw silk every year.

We are not trying to supply statistics already published elsewhere (in particular by the ISA). Our aim is to supply complementary data which are difficult to find at present. For example, cocoon imports and exports, cocoon prices. Above all, we hope to be able to establish, in due course, an exhaustive list of cocoon and raw silk producing countries, including all the small producers.

This first attempt, which concerns 1991, shows how difficult it is to gather the desired information. We questioned, through official channels, over 50 countries. Less than half of them replied and some answers are incomplete.

We hope, however, that after this first attempt, the interest aroused by these statistics will enable the data to be collected more easily in future.

Gérard CHAVANCY
Secretary-General of the
International Sericultural Commission

Tableau I. Production de cocons et de soie grège en 1991.

Table I. 1991 cocoon and raw silk production.

Pays <i>Country</i>	Cocons frais <i>Fresh cocoons</i> (tonnes)	Soie grège <i>Raw silk</i> (tonnes)
Afrique du Sud / <i>South Africa</i>	6.6	-
Brésil / <i>Brazil</i>	18 215	2 077
Bulgarie / <i>Bulgaria</i>	830	140
Chine / <i>China</i>	490 000	48 486
Colombie / <i>Colombia</i>	213	30
Côte d'Ivoire / <i>Ivory Coast</i>	1.9	0
Egypte / <i>Egypt</i>	40.5	4.5
France	3	0.45
Grèce / <i>Greece</i>	30	-
Inde / <i>India</i>	116 672	11 487 (1178)*
Indonésie / <i>Indonesia</i>	980	140
Italie / <i>Italy</i>	5**	0
Japon / <i>Japan</i>	20 819	5 527
Madagascar	45	-
Philippines	25	0.2
Pologne / <i>Poland</i>	0.7	0.2
Roumanie / <i>Rumania</i>	200	20
Taiwan / <i>Taiwan</i>	187	2.4
Thaïlande / <i>Thailand</i>	13 600	1 700
Turquie / <i>Turkey</i>	1 350	200
Ukraine	673	68

- Donnée non fournie / *Data not presented.*

* Entre parenthèses, soie non mûrier / *In parentheses, non mulberry silk.*

** La production habituelle de l'Italie est de 65 tonnes. Réduite en 1991 en raison d'un phénomène de non filage des cocons / *Italy normally produces 65 tonnes. Reduced in 1991 owing to a non-spinning phenomenon in cocoons.*

Tableau II. Exportations et importations de cocons et de soie grège en 1991.

Table II. Cocoon and raw silk imports and exports in 1991.

Pays	Exportation de cocons secs	Exportation de soie grège	Importation de cocons secs	Importation de soie grège
Country	Dry cocoon exports (tonnes)	Raw silk exports (tonnes)	Dry cocoon imports (tonnes)	Raw silk imports (tonnes)
Afrique du Sud / South Africa	0	0	0	0
Brésil / Brazil	-	1 745	-	-
Bulgarie / Bulgaria	40	20	0	0
Chine / China	-	10 213	-	-
Colombie / Colombia	11.2	23	0	0
Côte d'Ivoire / Ivory Coast	0.8	0	0	0
Egypte / Egypt	0	0	0	0
France	0	9	1.5	271
Grèce / Greece	-	-	-	-
Inde / India	0	0	0	1379 (219)*
Indonésie / Indonesia	-	0	0	-
Italie / Italy	0	5	10	2 980
Japon / Japan	0	0	658	2 766
Madagascar	0	0	0	0
Philippines	1	0	0	0.3
Pologne / Poland	0	0	0	0
Roumanie / Rumania	0	0	0	0
Taiwan / Taiwan	7.9	4.7	0	249
Thaïlande / Thailand	115.4	26.6	146.7	241.5
Turquie / Turkey	7.5	3	0	3
Ukraine	0	0	0	0

- Donnée non fournie / Data not presented.

* Entre parenthèses, soie non mûrier / In parentheses, non mulberry silk.

Tableau III. Prix moyens du kilogramme de cocons en dollars américains en 1991.

Table III. Average prices for 1 kg of cocoons in US dollars in 1991.

Pays	Prix payé aux producteurs (cocons frais)	Prix à l'exportation (cocons secs)	Prix à l'importation (cocons secs)
Country	Price paid to producers (fresh cocoons)	Export price (dry cocoons)	Import price (dry cocoons)
Bulgarie / <i>Bulgaria</i>	1.9	4.5 - 6.7	
Colombie / <i>Colombia</i>	2.9	9	
Côte d'Ivoire / <i>Ivory Coast</i>	2	14	
Egypte / <i>Egypt</i>	1		
France	12		
Inde / <i>India</i>	4.1		
Indonésie / <i>Indonesia</i>	2-3		
Italie / <i>Italy</i>	12		
Japon / <i>Japan</i>	14.1		13.4
Madagascar	2.75		
Philippines	2.95	18.8	
Pologne / <i>Poland</i>	13.3		
Roumanie / <i>Rumania</i>	5		
Taiwan / <i>Taiwan</i>	6.5	14.5	
Thaïlande / <i>Thailand</i>	4	2.1	4.2
Turquie / <i>Turkey</i>	2.65	7.3	
Ukraine	3.5		

STUDIES ON THE KENCHU VIRUS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. :

II. PURIFICATION AND PROPERTIES OF Bng-KV II VIRUS

C.S. PATIL, K.D. SPENCE¹, S. GURUSIDDAIAH*, T.R. KYRIAKIDES & S.B. DANDIN**

Department of Microbiology, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.

* Bioanalytical Center, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.

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

A new Kenchu-type virus designated Bng-KV II was isolated from infected larvae of the silkworm, Bombyx mori L., and characterized. Electron microscopic studies with the purified Bng-KV II showed two sizes of spherical particles with average diameters of 26.01 ± 0.53 nm and 28.88 ± 0.45 nm. Following CsCl density gradient separation, the particles were found at densities of 1.4, 1.435 and 1.5 g/cm³. The purified Bng-KV II had a sedimentation coefficient of 103 S₂₀ (obs). SDS-PAGE analysis showed that the Bng-KV II particles contained two polypeptides, designated as VP1 and VP2, with molecular weights of 52 and 58.5 kd, respectively.

Keywords : *Bombyx mori*, Kenchu virus, flacherie, electron microscopy, buoyant density, polypeptides, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

INTRODUCTION

Sericulture is an important cottage industry, and contributes substantially to the rural economy of countries like India. Losses due to diseases are one of the major constraints to progress in sericulture. Cocoon losses due to silkworm diseases have been reported as 30-40 % in India (Janakiraman, 1961) and 10 % in Japan (Yokoyama, 1963). Among the diseases, flacherie has been considered one of the most serious maladies accounting for about 70 % of the total crop loss (Aruga and Tanada, 1971).

Flacherie-type diseases have received a number of designations, and it is now clear that different types of viruses are responsible for the symptoms observed. The names "gattine" (Paillot, 1929) and "infectious flacherie F type" (Yamasaki *et al.*, 1960) were given to flacherie disease of silkworms. The etiology of infectious flacherie F disease (IFV) was originally attributed to both bacterial and viral agents (Steinhaus, 1949). Later, several publications appeared that reported the isolation of virus particles from flacherie-diseased silkworms (Aizawa *et al.*, 1964 ; Ayuzawa, 1972 ; Furuta, 1973 ; Himeno *et al.*, 1974, 1976, 1980 ; Kawase *et al.*, 1976 ; Manabe *et al.*, 1978 ; Matsui, 1973, 1977). The particles isolated were spherical, non-enveloped, ranged in diameter from 14-32 nm, contained RNA and were shown to belong to the Picornavirus group.

In related work, a smaller virus was isolated (Shimizu, 1975) and designated as "Ina flacherie virus" (Ina FV). Later, it was shown to contain single-stranded DNA and to be a member of the "densovirus" group (DNV) of the family Parvoviridae (Kang *et al.*, 1978 ; Nakagaki and Kawase, 1980a, 1980b).

1. Person to whom reprint requests should be addressed.

Recently, the first known virus-caused flacherie disease in India was reported. Hadimani (1980) isolated the "Kenchu Virus" (KV) which was responsible for flacherie disease (pale and reddish appearance of the diseased larvae, and excretion of faecal pellets in chain-like formation termed "chain excreta"). The above symptoms are not observed in flacherie-diseased silkworms in Japan. The differing susceptibilities of Japanese and Indian silkworms to KV, as well as serological differences between IFV and DNV (Ina FV) of Japan and KV of India (Shyamala *et al.*, 1987) suggested that KV differs from IFV and DNV. We recently reported the partial characterization of KV (Bng-KV I) from flacherie-diseased silkworms (Patil *et al.*, 1992). Here we report the characterization of a second KV strain isolated (Bng-KV II). This new strain differs from the one reported earlier (Bng-KV I) in sedimentation profiles, buoyant densities, protein content and in antigenic properties.

MATERIALS AND METHODS

a) Purification of Bng-KV II :

The technique for the purification of Bng-KV II was a modification of the procedure described by Himeno *et al.* (1974), and Nakagaki and Kawase (1980a). The lyophilized Kenchu-diseased silkworm tissues were soaked overnight in 0.05M Tris-HCl buffer, pH 7.5 and homogenized. Large particles were removed by centrifugation at 7000 rpm using a Sorvall RC5 with SS34 rotor for 10 minutes at 5 °C. The supernatant was mixed with an equal volume of cold fluorocarbon (1,1,2-trichlorotrifluoroethane) and shaken vigorously for 5 minutes. The phases were separated by centrifugation at 7000 rpm for 10 min. and the aqueous supernatant was collected. The treatment with fluorocarbon was repeated three times. Powdered ammonium sulfate was slowly added to give 40 % saturation. The solution was gently stirred overnight at 5 °C and centrifuged at 10000 rpm for 30 min. The precipitate was suspended in 0.01M EDTA-0.05M Tris HCl buffer (ET buffer) to approximately 1/3 of the volume of the original homogenate sample. This was again centrifuged at 7000 rpm for 10 min. to remove the unsuspended materials. The virus was pelleted from the supernatant by ultracentrifugation at 35000 rpm using Beckman SW-Ti 40 swinging bucket rotor for 3 hr at 4 °C. The ultracentrifugation procedure was repeated 3 times and the pelleted virus was resuspended in ET buffer. The suspension was filtered through 1.2 µm, and 0.45 µm Millipore filters and stored at -20 °C. This is the partially purified Bng-KV II virus preparation.

b) Centrifugation in a sucrose density gradient :

The partially purified virus was further purified by centrifugation in a linear 10-40 % (W/V) sucrose gradient, prepared in ET buffer. The gradients were prepared with a gradient mixing apparatus (Buchler Instruments). The virus sample (0.6 ml) was layered on top of the gradient and centrifuged at 25000 rpm for 3 hr at 4 °C in Beckman SW Ti 40 swinging bucket rotor. The 360 µl fractions were collected from the top of the tube after the centrifugation and were mixed with 2 ml Tris-HCl buffer, pH 7.5 and the optical densities were measured at 260 nm with a Hitachi UV spectrophotometer. The virus was again pelleted and dialysed in Tris-HCl buffer overnight at 4 °C.

c) Isopycnic centrifugation in CsCl solution :

CsCl was dissolved in ET buffer containing the purified virus from the sucrose gradient centrifugations. The density of the solution was adjusted to 1.45 gm/cm³ as determined from the refractive index measured with a refractometer (Bausch and Lomb) and centrifuged on Beckman SW Ti 40 swinging bucket rotor at 29000 rpm for 50 hr at 22 °C. The fractions were analyzed as described above.

d) Sedimentation coefficient :

The sedimentation coefficient of the virus particles collected from the CsCl gradients was determined by using Beckman model E Analytical Ultracentrifuge equipped with UV absorbance optics. The rate of movement of the boundary was measured by using the photoelectric scanning system. The analysis was made in 0.1M NaCl-0.05m Tris-HCl buffer, pH 7.5 at 20 °C at a speed of 26000 rpm.

e) Electron microscopy of the virus particles :

Virus particles collected from the sucrose density gradient were negatively stained with 2 % phosphotungstic acid, pH 6.8, on 300 meshed Formavar coated grids and examined with a Hitachi H-600 electron microscope at Washington State University. The sizes of the virus particles were determined from the electron micrographs using a micrometer.

f) Determination of protein content of the virus :

The protein content of the virus was determined by the method of Lowry *et al.* (1951) with bovine serum albumin as standard.

g) SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis :

Bng-KV II virus particles purified by sucrose density gradient as described above were dissociated by suspending in the sample buffer containing 0.125M Tris, pH 6.8, 4 % SDS, 20 % glycerol, 0.02 % Bromophenol blue, and with or without 10 % 2-mercaptoethanol (2-ME). The polypeptides of the virions were separated on 12 % polyacrylamide gel ; SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was performed as described previously (Hui and Hurlbert, 1979 ; Lane and Hurlbert, 1980). The gels were stained with Coomassie brilliant blue. Proteins containing disulfide bonds migrate differently in the gel, depending upon whether 2-ME is present or not ; these two conditions were applied here to aid in distinguishing the viral proteins.

h) Determination of molecular weights :

The Bng-KV II polypeptide molecular weight estimations were determined by SDS-PAGE. The comparative polypeptide molecular weight standards selected were those of *Manduca sexta* immune hemolymph proteins whose weights were established earlier by Hughes *et al.* (1983).

RESULTS

a) Sedimentation profiles in sucrose gradient and in CsCl gradient centrifugations :

Sedimentation profiles of Bng-KV II after a 10-40 % sucrose gradient centrifugation showed a major peak at fraction number 12 and a minor peak at 17 (Fig. 1). Subsequent isopycnic centrifugation of these components in CsCl gradient yielded buoyant densities of 1.40, 1.435 and 1.5 gm/cm³ (Fig. 2). The sedimentation profile in CsCl was essentially identical to that of the sucrose gradient except that an additional small shoulder at fraction number 31 was observed in the former.

b) Electron microscopic observation :

The fractions showing peaks in sucrose density centrifugation were dialyzed in Tris-HCl buffer and used for electron microscopic studies. A negatively stained Bng-KV II suspension revealed a large number of non-enveloped spherical viral particles. The average particle diameter of Bng-KV II virions ranged from 28.88 ± 0.49 to 26.01 ± 0.53 nm (Fig. 3). Some disrupted particles had inner components and also some were completely empty. Although two sizes of virus particles were present, electron microscopy suggested that the preparation was otherwise considerably pure ; the relative size distribution of the two particles is depicted in Fig. 4.

c) Sedimentation coefficient :

The calculated value of sedimentation coefficient using Beckman analytical ultracentrifuge with UV absorbance optics was 103 S₂₀ (obs).

d) SDS-PAGE and molecular weight estimation :

The number and nature of the polypeptides of Bng-KV II virion capsid proteins were studied on 12 % SDS-PAGE. The virions dissociated in the sample buffer without 2-ME revealed two distinct major bands and possibly a minor diffused band (Fig. 5). When the virus sample was dissolved in the presence of 2-ME, it showed two distinct major bands. Since only two major bands were clearly distinguishable under both conditions, only these two were given designations (VP1 and VP2).

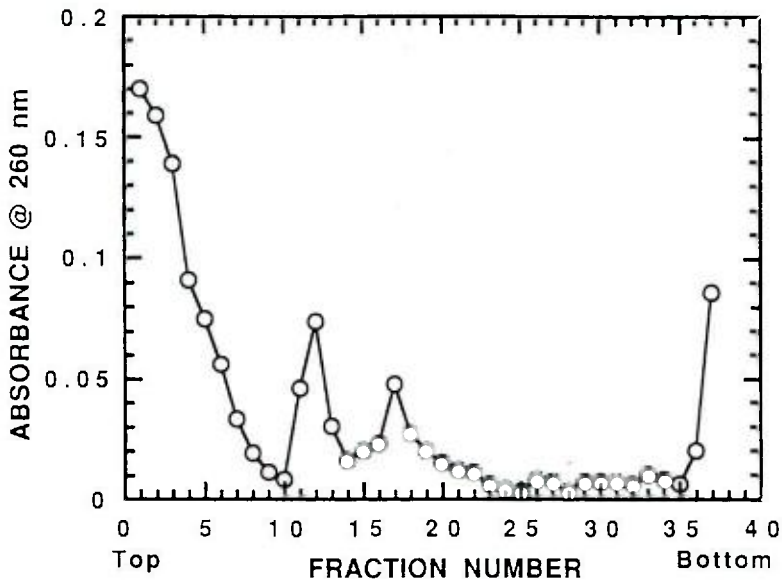


Fig. 1 : Sedimentation profiles of Bng-KV II following a 10-40 % sucrose density gradient centrifugation.

Fig. 1 : Profils de sédimentation de Bng-KV II après centrifugation sur un gradient de densité de sucrose de 10 et 40 %.

In order to estimate the molecular weights of Bng-KV II polypeptides present in the dissociated virus sample, the proteins of hemolymph prepared from tobacco hornworm, *M. sexta*, whose molecular weights are known, were used as marker proteins (Hughes *et al.*, 1984). The apparent molecular weights of VP1 and VP2 polypeptides were determined to be 52 and 58.5 kd, respectively.

DISCUSSION

The purified Bng-KV II preparation contained two sizes of spherical particles with average diameters of 26.01 ± 0.53 nm and 28.88 ± 0.49 nm, which showed a sedimentation coefficient of 103 S₂₀(obs). The two kinds of particles observed may be from the same virus; this has been observed by other workers with similar viruses, in which both mature and immature forms of the virus are present. For example, two kinds of particles were identified in which one is now considered to be an immature form (Himeno *et al.*, 1974, 1979); both banded in isopycnic CsCl gradients at relatively high buoyant densities ranging from 1.4 to 1.5 g/cm³. Tinsley and Longworth (1973) reported the range of densities of the infectious viral bands as 1.38 to 1.45 g/cm³ and further suggested that appearance of several minor bands in isopycnic centrifugation in CsCl is a common feature for parvoviruses. Virus peaks observed at densities 1.44 to 1.47 g/cm³ in parvoviruses have been found to be antigenically indistinguishable from the major infectious bands (Hoggan, 1971). This suggested that the virus peaks observed in Bng-KV II at buoyant densities of 1.4 and 1.435 g/cm³ were the main infectious particles.

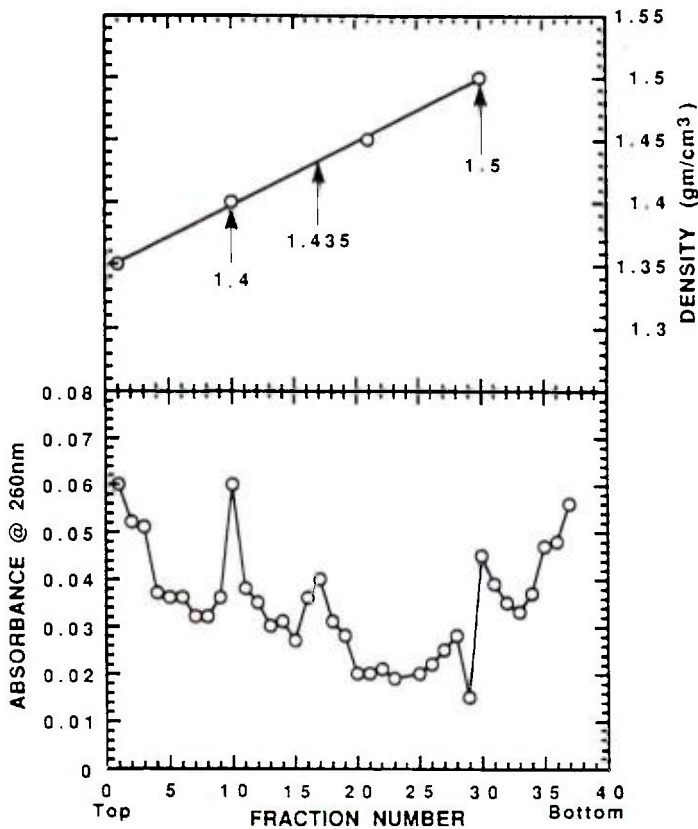


Fig. 2 : Isopycnic gradient centrifugation in CsCl of the peak fractions seen in Figure 1.

Fig. 2 : Centrifugation sur gradient isopycnique de CsCl des fractions principales observées dans la figure 1.

Various other workers have also observed the mixed population of particles in their purified preparations. Aizawa *et al.* (1964), Himeno *et al.* (1974), and Kurisu *et al.* (1976) isolated two kinds of virus particles (IFV) with diameters of 20 and 32 nm and with buoyant densities of 1.288 and 1.375 from flacherie-diseased silkworms. Kawase *et al.* (1974) reported that the nucleic acid in the IFV was RNA. On the other hand, Matsui (1973) described two kinds of virus particles containing DNA with diameters of 21 and 28 nm; CsCl gradient centrifugation showed that the smaller particles (21 nm) were found heavier than the larger (28 nm). Nakagaki and Kawase (1980a) reported a parvo-like virus containing single-stranded DNA and having a diameter of 22.0 ± 0.5 nm, which had a sedimentation coefficient of 102 S and buoyant densities of 1.4 and 1.45 g/cm³. A single type of particle was reported by Ayuzawa (1972) who purified a flacherie virus by CsCl gradient centrifugation and reported that the virus had a sedimentation coefficient of 183 S, a buoyant density of 1.375 and a diameter of 26 ± 2 nm.

Although the nucleic acid of Bng-KV II has not yet been analysed, with respect to size, size distribution and density, the Bng-KV II virus resembles the parvoviruses (Salzman, 1978; Hoggan,

1971 ; Tinsley and Longworth, 1973). The parvoviruses may be generally described as DNA containing spherical viruses having 18-26 nm diameter in size, with a relatively high density in CsCl solution (1.38-1.46 g/cm³) and produce several classes of particles as assayed by buoyant density in isopycnic centrifugation in CsCl.

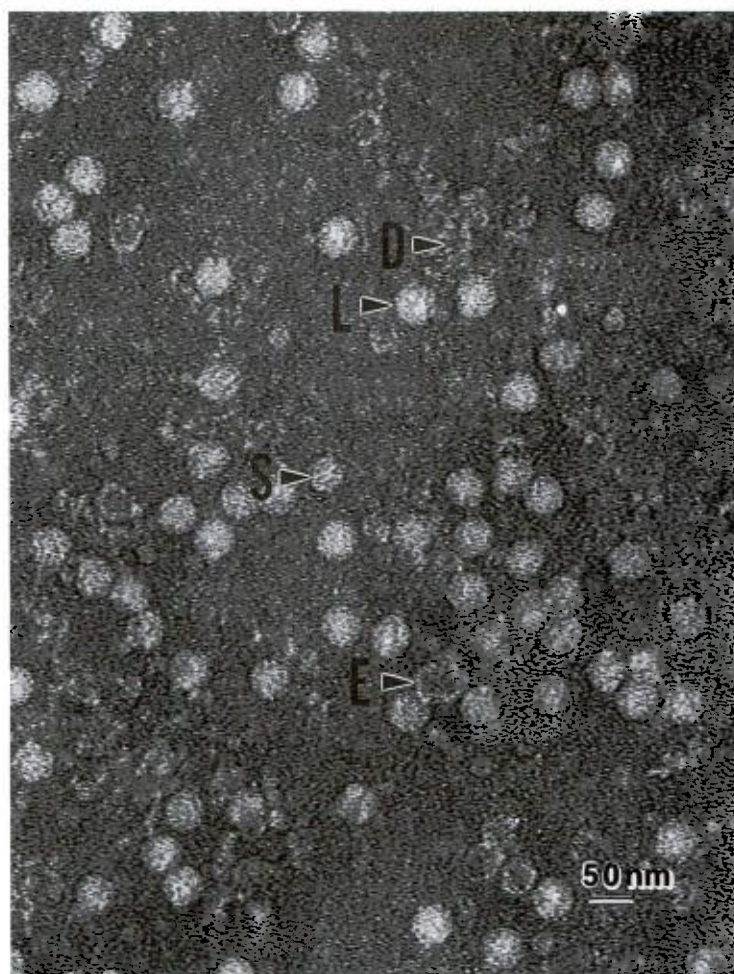


Fig. 3 : Electron micrographs of 2 % phosphotungstic acid negatively stained Bng-KV II purified following sucrose density gradient centrifugation.

Fig. 3 : Micrographies électroniques des particules de Bng-KV II purifiées et colorées avec 2 % d'acide phosphotungstique après centrifugation sur un gradient de densité de sucrose.

SDS-PAGE has been most generally employed for the isolation of structural proteins from virus (Maizel, 1969). Electrophoresis of the dissociated Bng-KV II virions on 12 % SDS-PAGE gels revealed the presence of polypeptides with approximate molecular weights of 52 and 58.5 kd. Matsui *et al.* (1977) reported two proteins with molecular weights of 49.2 and 73.5 kd from the Parvo-like virus. Nakagaki and Kawase (1980b) suggested that *Bombyx* DNV contained 4 structural proteins with molecular weights of 49000, 58.5 and 98 (Tijssen *et al.*, 1976). On the other hand, Himeno *et al.* (1979, 1980) isolated more than six polypeptides, ranging in molecular weight from 12 to 69, from the flacherie virus (IFV) of silkworms. Salzman's studies (1978) suggested that Parvoviruses contained 2-3 polypeptides with a capsid protein having a molecular weight of 60-72. The two polypeptides of Bng-KV II are similar in weight to certain of the former viruses, as well as to two investigated densovirus viruses including a *Bombyx* DNV (Nakagaki and Kawase, 1980b) and the *Galleria* DNV (Tijssen *et al.*, 1976) of Parvoviruses. However, both *Bombyx* DNV (Nakagaki and Kawase, 1980b) and *Galleria* DNV (Tijssen *et al.*, 1976) contain four polypeptides, two of which are similar to the two detected in Bng-KV II. It is clear that even if Bng-KV II is eventually identified as a member of the latter group of viruses, the peptide pattern distinguishes it as a different virus.

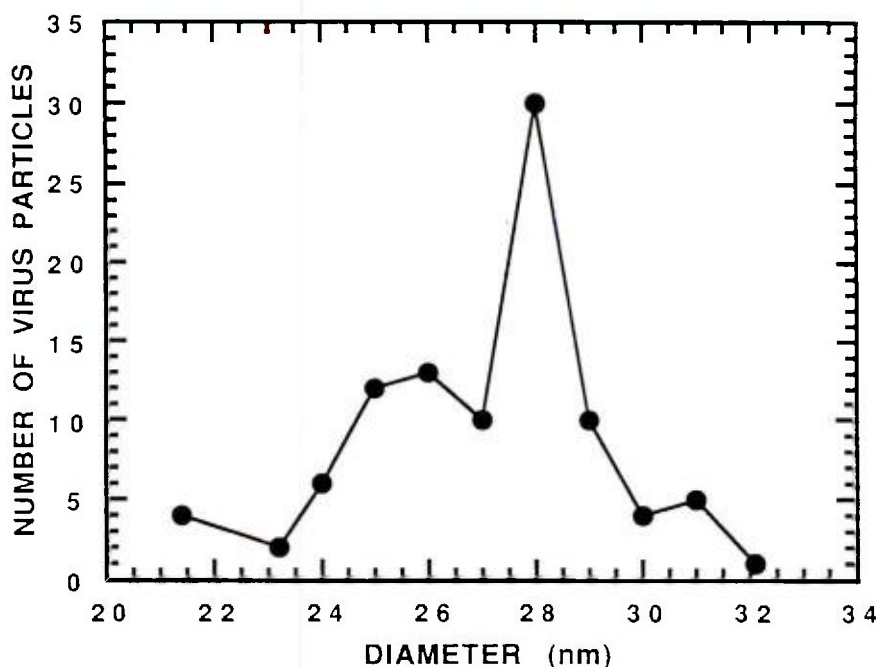


Fig. 4 : Histogram representing the diameters of the Bng-KV II particles.

Fig. 4 : Histogramme des diamètres des particules de Bng-KV II.

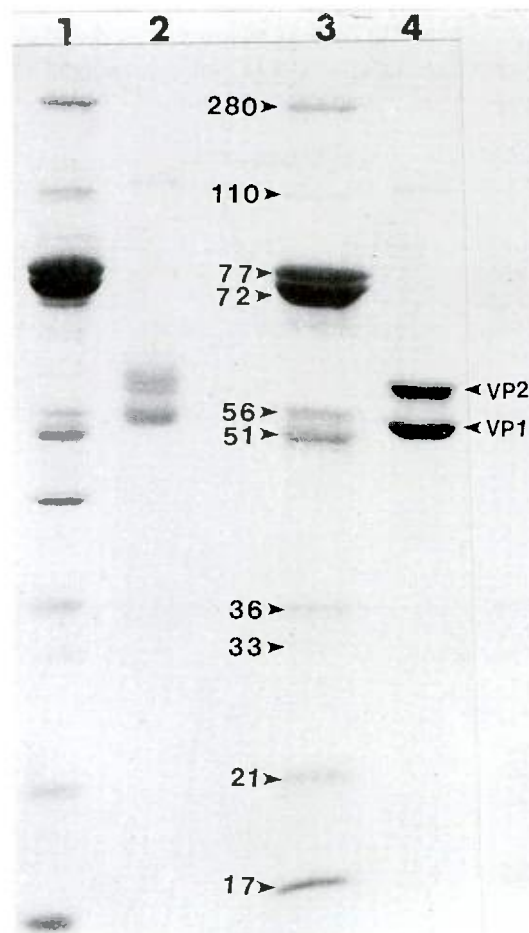


Fig. 5 : Electrophoresis of dissociated Bng-KV II virions and standard proteins on 12 %, 0.75 mm SDS-polyacrylamide gels.

Proteins were stained with Coomassie brilliant blue. Sample buffers both lacking and containing 2-mercaptoethanol were employed to aid in distinguishing the composite proteins. Protein standards were the hemolymph polypeptides of tobacco hornworm, *M. sexta*, shown in lane 1 (without 2-mercaptoethanol) and lane 3 (plus 2-mercaptoethanol). The Bng-KV II polypeptides are in lane 2 (without 2-mercaptoethanol) and lane 4 (with 2-mercaptoethanol). Molecular weights (kilodaltons) of key standard polypeptides are noted on the left side of lane 3 and are accurate for all proteins only in samples containing 2-mercaptoethanol ; major polypeptides of Bng-KV II were designated VP1 and VP2.

Fig. 5 : Electrophorèse des virions dissociés de Bng-KV II et des protéines standard sur gel de polyacrylamide-SDS à 12 %, 0,75 mm.

Les protéines ont été colorées avec du bleu brillant de Coomassie. L'utilisation de tampons échantillons contenant ou non du 2-mercaptoéthanol servent à distinguer les protéines composites. On a utilisé comme protéines standard des polypeptides de l'hémolymphe de *M. sexta* contenant du 2-mercaptoéthanol (puits 1) ou non (puits 3). On peut voir les polypeptides de Bng-KV II dans le puits 2 (sans 2-mercaptoéthanol) et dans le puits 4 (avec 2-mercaptoéthanol). Les poids moléculaires des polypeptides standards clés sont notés à gauche du puits 3 et sont exacts pour toutes les protéines uniquement dans les échantillons contenant du 2-mercaptoéthanol ; les polypeptides principaux de Bng-KV II ont été dénommés VP1 et VP2.

It should be further noted that the virus-infected epithelium of the midgut of the KV-infected silkworms did not show the specific fluorescence reaction with antisera against the IFV and DNV (Ina strain) viruses of Japan. In addition, there was an absence of precipitation bands in gel diffusion tests with the above antisera (Shyamala *et al.*, 1987 ; Nakagaki and Kawase, 1980b). This lack of antigenic similarity strongly supports the assumption that Bng-KV II is also different from these otherwise similar viruses.

REFERENCES

- AIZAWA K., FURUTA Y., KURATA K., SATO F. (1964) On the etiologic agent of the infectious flacherie of the silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus). Bull. Sericult. Exp. Sta., 19, 223-240.
- ARUGA H., TANADA Y. (1971) The cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm. Univ. Tokyo Press, Japan, p. 5.
- AYUZAWA C. (1972) Studies on the infectious flacherie of the silkworm, *Bombyx mori* L. I. Purification of the virus and some of its properties. J. Sericult. Sci. Japan, 41, 338-344.
- FURUTA Y. (1973) Studies on the previously unreported flacherie virus infecting the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 46, 353-358.
- HADIMANI A.K. (1980) Studies on the nature of Kenchu disease of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus in Karnataka. M. Sc. (Agri.) Thesis, Univ. Agril. Sci. Bangalore, p. 91.
- HIMENO M., ONODERA K., TANAMI (1974) Properties of flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 23, 164-171.
- HIMENO M., AOKI K., KOMANO T. (1976) Nucleic acid of flacherie viruses of the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Invertebr. Pathol., 28, 223-228.
- HIMENO M., MAEDA M., AOKI H., KOMANO T. (1979) Biochemical and biophysical properties of flacherie virus of the silkworm. J. Invertebr. Pathol., 33, 348-357.
- HIMENO M., ASADA Y., KOMANO T. (1980) Polypeptide composition of flacherie viruses of the silkworm. J. Invertebr. Pathol., 36, 172-179.
- HOGGAN M.D. (1971) Small DNA viruses. In Comparative Virology. (K. Maramorsch and E. Kurstak, eds.) Academic Press, New York/London, pp. 43-79.
- HUGHES J.A., HURLBERT R.E., RUPP R.A., SPENCE K.D. (1983) Bacteria-induced haemolymph proteins of *Manduca sexta* pupae and larvae. J. Insect Physiol., 29, 625-632.
- HUI J.M., HURLBERT R.E. (1979) Modifiable chromatophore proteins in photosynthetic bacteria. J. Bact., 138, 207-217.
- JANAKIRAMAN A.T. (1961) Diseases affecting the Indian silkworm races. J. Silk worm, 13, 91-101.
- KANG S.K., NAKAGAKI M., SHIMIZU T., KAWASE S. (1978) Purification of Ina-flacherie virus and some properties of its nucleic acid. J. Sericult. Sci. Japan, 47, 39-46.
- KAWASE S., KANG S.K. (1976) On the nucleic acid of a newly-isolated virus from the flacherie diseased silkworm larvae. J. Sericult. Sci. Japan, 45, 87-88.
- KAWASE S., SUTO C., AYUZAWA C., INOUE H. (1974) Chemical properties of infectious flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Appl. Entomol. Zool., 9, 100-101.
- KURISU K., ODAN T., KUROSAWA K., MANABE Y., FUJIOKA H. (1976) Purification of the flacherie virus (FVS I and FVS II) of the silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Fac. Textile Sci. Kyoto Univ. Ind Arts and Textile Fibres, 8, 7-12.
- LANE B.C., HURLBERT R.E. (1980) Characterization of the cell wall and cell wall proteins of *Chromatium vinosum*. J. Bact., 141, 1386-1398.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- MAIZEL J.V. (1969) Acrylamide gel electrophoresis of proteins and nucleic acids. In Fundamental Techniques in Virology. (Habel K. and Salzman N.P., eds.) Academic Press, New York, pp. 334-362.
- MANABE Y., KURASAWA K., KURISU K. (1978) Capsid structure of small particle (FVS II) in flacherie viruses of the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Electron Microsc., 21, 25-30.
- MATSUI M. (1973) Smaller virus particles than the flacherie virus found in the diseased silkworm larvae, *Bombyx mori* L. Japan J. Appl. Entomol. Zool., 17, 113-115.

- MATSUI M., MAEDA S., WATANABE H. (1977) Some properties of a small flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori* L. Japan J. Appl. Entomol., 21, 79-84.
- NAKAGAKI M., KAWASE S. (1980a) DNA of a new parvo-like virus isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 35, 124-133.
- NAKAGAKI M., KAWASE S. (1980b) Structural proteins of densovirus isolated from the silkworm, *Bombyx mori*, infected with the flacherie virus. J. Invertebr. Pathol., 36, 166-171.
- PAILLOT A. (1929) La gattine et la flacherie vraie ou flacherie de Pasteur, maladies infectieuses mixtes à ultra-microbe et bactéries. Compt. Rend. Acad. Sci., 189, 308-310.
- PATIL C.S., SPENCE K.D., GURUSIDDAIAH S., KYRIAKIDES T.R., DANDIN S.B. (1992) Studies on the Kenchu virus disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. : I. Purification and properties of Bng-KV I virus. Sericologia, 32(1), 37-45.
- SALZMAN L.A. (1978) The Parvoviruses. In The molecular biology of animal viruses. (Nayak D.P., ed.). Academic Press, New York, Vol. II, pp. 540-587.
- SHIMIZU T. (1975) Pathogenicity of an infectious flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori*, obtained from sericultural farms in the suburbs of Ina City. J. Sericult. Sci. Japan, 44, 45-48.
- SHYAMALA M.B., GOVINDAN R., HADIMANI A.K., NARAYANASWAMY T.K., ESWARAPPA S. (1987) Kenchu-a silkworm flacherie in Karnataka. UAS Technical Series, Univ. Agril. Sci. Bangalore, India, pp. 1-146.
- STEINHAUS E.A. (1949) Principles of Insect Pathology. McGraw Hill Book Company.
- TIJSSEN P., VAN DEN HURK J., KURSTAK E. (1976) Biochemical, biophysical, and biological properties of densovirus. I. Structural proteins. J. Virol., 17, 686, 691.
- TINSLEY T.W., LONGWORTH J.F. (1973) Parvoviruses. J. Gen. Virol., 20, 71-75.
- YAMAZAKI H., SAKAI E., SHIMODAIRA M., YAMADA T. (1960) Studies on the infectious flacherie (F-type) of silkworms, *Bombyx mori*. Bull. Nagano-ken Sericult. Exp. Sta., 61, 1-28.
- YOKOYAMA T. (1963) Sericulture. Ann. Rev. Ent., 9, 287-306.

ETUDES SUR LE VIRUS DE KENCHU CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. :

II. PURIFICATION ET PROPRIETES DU VIRUS Bng-KV II

C.S. PATIL, K.D. SPENCE, S. GURUSIDDAIAH*, T.R. KYRIAKIDES & S.B. DANDIN**

Department of Microbiology, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.

* Bioanalytical Center, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.

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

Un nouveau virus de type Kenchu, dénommé Bng-KV II, a été isolé à partir de larves infestées du ver à soie Bombyx mori L. et caractérisé. Les études au microscope électronique du virus Bng-KV II purifié ont révélé deux tailles de particules sphériques de $26,01 \pm 0,53$ nm et $28,88 \pm 0,45$ nm de diamètres moyens. La centrifugation sur gradient de densité de CsCl permet d'observer des particules aux densités de 1,4, 1,435 et 1,5 g/cm³. Le virus Bng-KV II purifié a un coefficient de sédimentation de 103 S₂₀ (obs). L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide avec SDS (dodécyl sulfate de sodium) montre que les particules de Bng-KV II contiennent deux polypeptides, dénommés VP1 et VP2, d'un poids moléculaire de 52 et 58,5 kd, respectivement.

INTRODUCTION

La sériciculture est une industrie artisanale importante et contribue de façon substantielle à l'économie rurale de pays comme l'Inde. Les pertes occasionnées par les maladies constituent l'un des principaux obstacles au développement de la sériciculture. On a observé que les maladies des vers à soie étaient responsables de 30 à 40 % des pertes de cocons en Inde (Janakiraman, 1961) et de 10 % des pertes au Japon (Yokoyama, 1963). Parmi ces maladies, la flacherie est considérée comme l'un des principaux fléaux, responsable d'environ 70 % des pertes totales de récolte (Aruga et Tanada, 1971).

On a attribué différents noms aux maladies du type flacherie et il est maintenant clair que les symptômes observés sont causés par différents types de virus. Les noms de "gatine" (Paillot, 1929) et de "Flacherie infectieuse de type F" (Yamasaki et coll., 1960) ont été donnés à la flacherie des vers à soie. L'étiologie de la flacherie infectieuse F (IFV) a été tout d'abord attribuée à la fois à des agents bactériens et des agents viraux (Steinhaus, 1949). Par la suite, plusieurs publications firent état de l'isolement des particules virales chez des vers à soie atteints de flacherie (Aizawa et coll., 1964 ; Ayuzawa, 1972 ; Furuta, 1973 ; Himeno et coll., 1974, 1976, 1980 ; Kawase et coll., 1976 ; Manabe et coll., 1978 ; Matsui, 1973, 1977). Les particules isolées étaient sphériques, non enveloppées, d'un diamètre variant de 14 à 32 nm, contenaient de l'ARN. On a démontré qu'elles appartenaient au groupe des picornavirus.

Dans des travaux connexes, un virus plus petit a été isolé (Shimizu, 1975) et dénommé "Virus de la flacherie Ina" (Ina FV). Par la suite, on a montré qu'il contenait de l'ADN monocaténaire et qu'il appartenait à groupe des "densovirus" (DNV) de la famille des parvoviridés (Kang et coll., 1978 ; Nakagaki et Kawase, 1980a, 1980b).

Récemment, on a observé en Inde la présence de la première flacherie connue causée par un virus. Hadimani (1980) a isolé le "Virus de Kenchu" (KV), responsable de la flacherie (caractérisée

par l'aspect pâle et rougeâtre des larves infestées et l'excrétion de pétoles fécales en chapelet dénommées "excreta en chapelet"). Les symptômes décrits ci-dessus n'ont pas été observés chez les vers à soie atteints de flacherie au Japon. La différence de sensibilité des vers à soie japonais et indiens à KV, ainsi que les différences sérologiques entre IFV et DNV (Ina FV) du Japon et KV d'Inde (Shyamala et coll., 1987) suggèrent que KV est différent d'IFV et de DNV. Nous avons récemment décrit la caractérisation partielle de KV (Bng-KV I) à partir de vers à soie atteints de flacherie (Paül et coll., 1992). nous décrivons ici la caractérisation d'une deuxième souche isolée de KV (Bng-KV II). Cette nouvelle souche diffère de celle qui a été décrite précédemment (Bng-KV I) au niveau de ses profils de sédimentation, de ses densités, de son contenu protéique et de ses propriétés antigéniques.

MATERIELS ET METHODES

a) Purification de Bng-KV II :

Pour la purification de Bng-KV II, on a modifié le protocole décrit par Himeno et coll. (1974) et Nakagaki et Kawase (1980a). Les tissus lyophilisés de vers à soie infestés par Kenchu sont trempés pendant une nuit dans un tampon de 0,05M Tris-HCl, pH 7,5, et broyés. Les grandes particules sont enlevées par centrifugation à 7 000 tours/minute dans une centrifugeuse Sorvall RC5 avec un rotor SS34 pendant 10 minutes à 5 °C. Le surnageant est mélangé à un volume égal de fluorocarbure froid (1,1,2-trichlorotrifluoroéthane) et agité énergiquement pendant 5 minutes. Les phases sont séparées par centrifugation à 7 000 tours/minute pendant 10 minutes et le surnageant aqueux est prélevé. Le traitement au fluorocarbure est répété trois fois. Du sulfate d'ammonium en poudre est ajouté peu à peu jusqu'à obtention d'une saturation de 40 %. La solution est agitée doucement pendant une nuit à 5 °C et centrifugée à 10 000 tours/minute pendant 30 minutes. Le culot est suspendu dans un tampon ET contenant 0,01 M EDTA-0,05M Tris HCl à raison d'environ 1/3 du volume de broyat originel. Le culot est centrifugé à nouveau à 7 000 tours/minute pendant 10 minutes pour ôter les matières non suspendues. Le virus est isolé du surnageant par ultracentrifugation à 35 000 tours/minute dans un rotor à pots pivotants Beckman SW-Ti 40 pendant 3 heures à 4 °C. Le protocole d'ultracentrifugation est répété 3 fois et le virus isolé est resuspendu dans un tampon ET. La suspension est filtrée en série à travers des filtres Millipore à 1,2 µm et 0,45 µm et stockée à -20 °C. Cette préparation constitue le virus Bng-KV II partiellement purifié.

b) Centrifugation dans un gradient de densité de sucrose :

Le virus partiellement purifié est encore purifié par centrifugation dans un gradient linéaire de sucrose de 10 à 40 % (F/V) préparé dans un tampon ET. Les gradients sont préparés à l'aide d'un appareil de mélange des gradients (Buchler Instruments). L'échantillon viral (0,6 ml) est déposé en haut du gradient et centrifugé à 25 000 tours/minutes pendant 3 heures à 4 °C dans un rotor à pots pivotants Beckman SW Ti 40. Des fractions de 360 µl sont prélevées à partir du haut du tube après la centrifugation et mélangées à 2 ml d'un tampon Tris-HCl, pH 7,5, et les mesures densitométriques sont effectuées à 260 nm dans un spectrophotomètre UV Hitachi. Le virus est à nouveau isolé et dialysé contre le tampon Tris-HCl pendant une nuit à 4 °C.

c) Centrifugation isopycnique dans la solution de CsCl :

Le chlorure de césium est dissous dans le tampon ET contenant le virus purifié par centrifugations sur gradient de sucrose. La densité de la solution est ajustée à 1,45 mg/cm³ selon l'indice de réfraction mesuré au réfractomètre (Bausch et Lomb). La solution est centrifugée dans un rotor à pots pivotants Beckman SW Ti 40 à 29 000 tours/minute pendant 50 heures à 22 °C. Les fractions sont analysées suivant la méthode décrite plus haut.

d) Coefficient de sédimentation :

Le coefficient de sédimentation des particules virales prélevées sur les gradients de CsCl est déterminé à l'aide de l'ultracentrifugeuse analytique Beckman modèle E équipée d'une lentille d'absorption d'UV. La vitesse de déplacement de la frontière est mesurée à l'aide d'un scanner

photoélectrique. L'analyse est effectuée dans un tampon contenant 0,1M NaCl-0,05m Tris-HCl, pH 7,5 à 20 °C à la vitesse de 26 000 tours/minutes.

e) Observation des particules virales au microscope électronique :

Les particules virales prélevées sur le gradient de densité de sucrose sont colorées avec de l'acide phosphotungstique à 2 %, pH 6,8, sur des grilles de 300 mesh recouvertes de Formavar et examinées au microscope électronique Hitachi H-600 à l'Université de Washington. Les tailles des particules sont déterminées d'après les micrographies à l'aide d'un micromètre.

f) Détermination du contenu protéique du virus :

Le contenu protéique du virus est déterminé suivant la méthode de Lowry et coll. (1951) en utilisant de la sérumalbumine bovine comme standard.

g) Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS :

Les particules du virus Bng-KV II purifiées sur gradient de densité de sucrose suivant la procédure décrite plus haut sont dissociées par suspension dans le tampon d'échantillon contenant 0,125M Tris, pH 6,8, 4 % SDS, 20 % glycérol, 0,02 % bleu de Bromophénol et avec ou sans 10 % 2-mercaptoéthanol (2-ME). Les polypeptides des virions sont séparés sur un gel de polyacrylamide à 2 % ; l'électrophorèse sur gel SDS-polyacrylamide (SDS-PAGE) est réalisée suivant la méthode décrite précédemment (Hui et Hurlbert, 1979 ; Lane et Hurlbert, 1980). Les gels sont colorés avec du bleu de Coomassie. Les protéines contenant des ponts disulfures présentent habituellement des migrations différentes à l'intérieur du gel, en fonction de l'absence ou de la présence de 2-ME ; les deux conditions ont été appliquées afin de faciliter la distinction des protéines virales.

h) Détermination des poids moléculaires :

Les poids moléculaires des polypeptides de Bng-KV II ont été estimés par SDS-PAGE. On a utilisé comme poids standards les poids moléculaires des polypeptides des protéines immunitaires de l'hémolymph de *Manduca sexta* qui ont été déterminés par Hughes et coll. (1983).

RESULTATS

a) Profils de sédimentation en gradient de sucrose et en centrifugations sur gradient de CsCl :

Les profils de sédimentation de Bng-KV II après centrifugation dans un gradient de sucrose de 10 à 40 % présentent un pic majeur à la fraction numéro 12 et un pic mineur à la fraction 17 (Fig. 1). La centrifugation isopycnique suivante de ces composants dans le gradient de CsCl donne des densités de 1,40, 1,435 et 1,5 gm/cm³ (Fig. 2). Le profil de sédimentation en CsCl est à peu près similaire au profil obtenu sur gradient de sucrose hormis un petit décrochement supplémentaire à la fraction numéro 31 dans le premier profil.

b) Observations au microscope électronique :

Les fractions présentant des pics après centrifugation en densité de sucrose sont dialysées dans le tampon Tris-HCl et utilisées pour les études au microscope électronique. Une suspension de Bng-KV II traitée en coloration négative fait apparaître un grand nombre de particules virales sphériques non enveloppées. Le diamètre moyen des particules des virions de Bng-KV II varie de $28,88 \pm 0,49$ à $26,01 \pm 0,53$ nm (Fig. 3). Certaines particules fractionnées ont des composants internes et certaines sont complètement vides. Bien que l'on observe deux tailles de particules, l'étude au microscope électronique suggère que cette préparation est par ailleurs pratiquement pure. La répartition des tailles relatives des deux particules est décrite dans la figure 4.

c) Coefficient de sédimentation :

On a calculé que la valeur du coefficient de sédimentation obtenue à l'aide de l'ultracentrifugeuse analytique Beckman à lentille d'absorption UV est de 103 S₂₀ (obs).

d) SDS-PAGE et estimation des poids moléculaires :

Le nombre et la nature des polypeptides composant les protéines de la capsid du virion de Bng-KV II ont été déterminés sur SDS-PAGE 12 %. Les virions dissociés dans le tampon échantillon contenant ou non du 2-ME révèlent deux bandes principales distinctes et, probablement, une bande mineure diffuse (Fig. 5). Lorsque l'échantillon viral est dissous en présence de 2-ME, il fait apparaître deux bandes majeures distinctes. Comme on ne distingue clairement que deux bandes majeures dans les deux conditions, seules celles-ci ont reçu une dénomination (VP1 et VP2).

Afin d'estimer les poids moléculaires des polypeptides de Bng-KV II présents dans l'échantillon viral dissocié, les protéines de l'hémolymphe préparées à partir de *M. sexta*, dont on connaît les poids moléculaires, sont utilisées comme marqueurs (Hughes et coll., 1984). Les poids moléculaires apparents des polypeptides de VP1 et VP2 sont respectivement de 52 et 58,5 kd.

DISCUSSION

La préparation purifiée de Bng-KV II contient des particules sphériques de deux tailles différentes avec des diamètres moyens de $26,01 \pm 0,53$ nm et $28,88 \pm 0,49$ nm ; ces particules présentent un coefficient de sédimentation de 103 S₂₀ (obs). Les deux types de particules observés pourraient provenir du même virus ; cela a déjà été observé par d'autres chercheurs pour des virus identiques, dans lesquels une forme mature et une forme immature du virus sont présentes simultanément. Par exemple, deux types de particules ont été identifiés précédemment (Himeno et coll., 1974, 1979) et l'on considère maintenant que l'un des deux est une forme immature ; ces deux types donnaient des bandes en gradient isopycnique de CsCl à des densités allant de 1,4 à 1,5 g/cm³. Tinsley et Longworth (1973) ont observé que les densités des bandes de virus infectieux étaient situées dans une fourchette de 1,38 à 1,45 g/cm³ et ont également suggéré que l'apparition de plusieurs bandes mineures après centrifugation isopycnique en CsCl est une caractéristique courante des parvovirus. On ne peut pas distinguer, au plan antigénique, les pics viraux observés dans des densités de 1,44 à 1,47 g/cm³ des bandes infectieuses majeures chez les parvovirus (Hoggan, 1971). Ceci suggère que les pics viraux observés chez Bng-KV II, qui ont des densités de 1,4 et 1,435 g/cm³, constituent les principales particules infectieuses.

Plusieurs autres chercheurs ont également observé le mélange des populations de particules dans leur préparations virales. Aizawa et coll. (1964), Himeno et coll. (1974) et Kurisu et coll. (1976) ont isolé deux types de particules virales (IFV) ayant des diamètres de 20 et 32 nm et des densités de 1,288 et 1,375 à partir de vers à soie atteints de flacherie. Kawase et coll. (1974) ont observé que l'acide nucléique contenu dans l'IFV était de l'ARN. Par ailleurs, Matsui (1973) a décrit deux sortes de particules virales contenant de l'ADN et ayant des diamètres de 21 et 28 nm ; la centrifugation dans un gradient de CsCl a montré que les petites particules (21 nm) étaient plus lourdes que les grandes (28 nm). Nakagati et Kawase (1980a) ont observé un virus semblable aux parvovirus contenant de l'ADN monocaténaire, d'un diamètre de $22,0 \pm 0,5$ nm et ayant un coefficient de sédimentation de 102 S et des densités de 1,4 et 1,45 g/cm³. Ayuzawa (1972) a observé un seul type de particule après purification d'un virus de la flacherie par centrifugation sur gradient de CsCl et établi que ce virus avait un coefficient de sédimentation de 183 S, une densité de 1,375 et un diamètre de 26 ± 2 nm.

Bien que l'acide nucléique contenu dans Bng-KV II n'ait pas encore été analysé, le virus Bng-KV II ressemble aux parvovirus du point de vue des tailles, de la répartition des tailles et de la densité, (Salzman, 1978 ; Hoggan, 1971 ; Tinsley et Longworth, 1973). En règle générale, on peut décrire les parvovirus comme étant des virus contenant de l'ADN, mesurant de 18 à 26 nm de diamètre, et donnant une densité relativement élevée dans une solution de CsCl (1,38 à 1,46 g/cm³) ; ils produisent plusieurs catégories de particules comme le montre l'obtention des densités par centrifugation isopycnique en CsCl.

L'électrophorèse est généralement la méthode la plus employée pour isoler les protéines structurales des virus (Maizel, 1969). L'électrophorèse des virions de Bng-KV II dissociés sur gels de polyacrylamide-SDS révèle la présence de polypeptides ayant des poids moléculaires d'environ 52 et 58,5 kd. Matsui et coll. (1977) ont observé deux protéines ayant des poids moléculaires de 49,2 et

73,5 kd chez un virus ressemblant aux parvovirus. Nakagaki et Kawase (1980b) ont suggéré que le DNV de *Bombyx* contenait quatre protéines structurales ayant des poids moléculaires de 49, 58,5 et 98 kd (Tijssen et coll., 1976). Par ailleurs, Himeno et coll. (1979, 1980) ont isolé plus de six polypeptides ayant des poids moléculaires situés entre 12 et 69 à partir du virus de la flacherie des vers à soie (IFV). Les études de Salzman (1978) suggèrent que les parvovirus contiennent 2 à 3 polypeptides avec une protéine de capsid d'un poids moléculaire de 60 à 72. Les deux polypeptides de Bng-KV II ont des poids similaires à ceux de certains virus déjà étudiés, ainsi qu'à ceux de deux virus de la denonnucléose comprenant un DNV de *Bombyx* (Nakagaki et Kawase, 1980b) et un DNV de *Galleria* (Tijssen et coll., 1976) appartenant aux parvovirus. Cependant, le DNV de *Bombyx* (Nakagaki et Kawase, 1980b) et le DNV de *Galleria* (Tijssen et coll., 1976) contiennent tous deux quatre polypeptides, dont deux sont identiques aux deux polypeptides décelés chez Bng-KV II. Il est clair que, même si on finit par identifier Bng-KV II comme membre du deuxième groupe de virus, le profil peptidique permet de l'identifier comme étant un virus différent.

On doit également souligner que l'épithélium de l'intestin moyen chez les vers à soie infestés par KV ne présente pas de réaction de fluorescence spécifique aux antisérums contrairement aux virus IFV et DNV (souche Ina) du Japon. De plus, on constate une absence de bandes de précipitation dans les tests de diffusion sur gels avec les antisérums cités plus haut (Shyamala et coll., 1987 ; Nakagaki et Kawase, 1980b). Cette absence de similitude antigénique appuie fortement l'hypothèse que Bng-KV II diffère également de ces virus par ailleurs identiques.

EFFECT OF THE APPLICATION OF JUVENILE HORMONE ANALOGUE IN IV INSTAR FOLLOWED BY THYROXINE IN THE PURE MYSORE BREED OF *BOMBYX MORI* (L.)

S.B. MAGADUM*, M.A HOOLI & V.B. MAGDUM

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

The topical application with a synthetic juvenile hormone analogue, Manta, in the IVth instar at 48 hr after the 3rd ecdysis, followed by thyroxine in the Vth instar at 72 hr after the 4th ecdysis, significantly increased the larval duration, larval weight, silk gland weight, female and male cocoon weights and their shell weights and egg productivity and significantly decreased the cocooning and moth emergence percentages in B. mori. The female and male cocoon weights increased after treatment with Manta followed by thyroxine by 18 and 10 % and cocoon shell weights by 19 to 22 %, respectively.

Keywords : JHA, Manta, thyroxine, egg productivity, cocoon, cocoon shell, *B. mori*.

INTRODUCTION

It was reported that the administration of juvenile hormone (JH) prolongs the larval weight and results in a significant increase in cocoon weight and cocoon shell weight in *B. mori* (Akai and Kobayashi, 1971 ; Akai *et al.*, 1971). Since then several investigators have shown that the treatment with JH analogues including Manta increased the larval duration (Akai *et al.*, 1973 ; Kobari and Akai, 1978 ; Shigematsu, 1978 ; Kamada *et al.*, 1979 ; Shibukawa and Akai, 1981 ; Washida, 1984), larval weight (Shimada *et al.*, 1979 ; Krishnaswami *et al.*, 1981), silk gland weight and its amino acids and nucleic acid content (Shigematsu, 1978 ; Wu *et al.*, 1978 ; Chen *et al.*, 1982), cocoon weight and cocoon shell weight (Amori *et al.*, 1977 ; Kobari and Akai, 1978, 1979 ; Kamada *et al.*, 1979 ; Krishnaswami *et al.*, 1981 ; Akai *et al.*, 1985 ; Magadum and Hooli, 1989) and egg productivity (Kimura *et al.*, 1986) in different races of silkworms.

There are a few reports showing that the treatment of thyroxine increased the body weight, cocoon weight, fecundity (Majumdar and Medda, 1975 ; Medda *et al.*, 1980 ; Choudhuri and Medda, 1985, 1988 ; Thyagaraja *et al.*, 1985 ; Magadum and Hooli, 1988), cocoon shell ratio and fecundity (Thyagaraja *et al.*, 1985) in different races of *B. mori*. These reports suggest that the economic parameters of the silkworm are improved after the treatment with JH analogue or thyroxine.

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

* Present address : Senior Research Officer, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

MATERIALS AND METHODS

The polyvoltine silkworms were reared in the laboratory (Krishnaswami, 1978). The fourth instar larvae were grouped in different experimental groups. Each group consisted of 20 worms of five replications (100 worms). Manta (M/s Otsuka Pharmaceutical Ltd, Osaka, Japan, a free gift from Dr H. Nishimura, IA Co-op. E. Association, Tokyo), the synthetic thyroxine (as thyroxine sodium - M/s Allengburg Pharmaceuticals, Glaxo, Bombay) were diluted in distilled water to form 4 µg/ml and 1 µg/ml solutions, respectively. The larvae in group 1 were topically applied with Manta in the IV instar at 48 hr after the third ecdysis, followed by thyroxine in the V instar at 72 hr after the fourth ecdysis. The larvae of this group (100 worms) received a total of 4 ml (16 µg) Manta and 4 ml of thyroxine (4 µg). The larvae in group 2 were treated only with Manta as in group 1 and those in group 3 were treated with thyroxine as in group 1 and served as Manta-treated and thyroxine-treated controls. The larvae in group 2 received a total of 4 ml (16 µg) Manta and those in group 3 received a total of 4 ml (4 µg) thyroxine. Appropriate distilled water treated (group 4) and untreated controls (group 5) were also maintained.

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

RESULTS AND DISCUSSION

Larval duration and larval weight :

The results indicate that the larval duration and larval weight significantly increased after the treatment with Manta followed by thyroxine. The treatment with Manta has been reported to increase the larval duration thereby extending the feeding period, which results in increased larval weight (Kobari and Akai, 1978 ; Washida, 1984). The treatment with thyroxine, on the contrary, has shortened the larval duration but increased the larval weight in the present study as in earlier reports (Majumdar and Medda, 1975 ; Thyagaraja *et al.*, 1985 ; Magadum and Hooli, 1988), which is suggested to be due to the growth stimulating effect of thyroxine on the larvae. The effect of Manta and thyroxine on the larval duration are antagonistic when applied individually. The results of the present study suggest that the shortening effect of thyroxine on the larval duration is overcome when it is administered to V instar larvae which were treated earlier with Manta in the IV instar.

Silk gland weight :

The silk gland weight was significantly increased after the treatment with Manta followed by thyroxine and also after the treatment with Manta or thyroxine. Similar results are reported after the treatment with JH or JH analogues in Japanese breeds of silkworms (Akai and Kobayashi, 1971 ; Akai *et al.*, 1973 ; Shigematsu, 1978 ; Shimada *et al.*, 1979). The increase in the silk gland weight after the treatment with Manta or Manta followed by thyroxine might be due to the increase in the silk protein synthesis, replication of DNA and accumulation of RNA in the silk gland (Akai *et al.*, 1971 ; Amori *et al.*, 1977 ; Chen *et al.*, 1982). The increase in the silk gland weight after the treatment with thyroxine might be due to the stimulatory effect of thyroxine on the synthetic activity of the silk gland.

Table I. Effect of Manta at 48 hr after the IV instar followed by thyroxine at 72 hr after the ecdysis in V instar larvae.

Tableau I. Effet de l'application de Manta 48 heures après le début du 4e âge puis de thyroxine 72 heures après l'ecdysis chez les larves du 5e âge.

Group	Treatment	Larval weight (g)	Silk gland weight (g)	Larval duration (hr)	Cocooning %	Moth emergence (%)	Fecundity (no.)
<i>Groupe</i>	<i>Traitement</i>	<i>Poids larvaire (g)</i>	<i>Poids de la glande séricigène (g)</i>	<i>Durée larvaire (hr)</i>	<i>Filage (%)</i>	<i>Emergence des papillons (%)</i>	<i>Fécondité (nombre)</i>
1	Manta + thyroxine	2.006* (121)	0.495* (122)	666* (102)	81.0* 64.25** (86)	87.0* 69.06** (95)	504 (129)
2	Manta (control) (témoin)	1.990* (120)	0.475* (117)	666* (102)	90.0* 71.67** (96)	94.0* 75.91** (102)	439* (112)
3	Thyroxine (control) (témoin)	2.089* (126)	0.505* (124)	638* (98)	84.0* 66.47** (89)	84.0* 66.44** (91)	490* (125)
4	Distilled water <i>Eau distillée</i> (control / témoin)	1.783 (107)	0.428 (105)	652 (100)	93.0 74.73** (99)	90.0 71.60** (98)	377 (97)
5	Untreated control <i>Témoin non traité</i>	1.662 (100)	0.406 (100)	652 (100)	94.0 75.96** (100)	92.0 73.63** (100)	390 (100)
SEM + CD at 5 %		0.044 0.124	0.014 0.039	3.98 11.27	0.596 1.687	0.653 1.846	11.67 33.018

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

** Angular transformed figures / *Transformées angulaires.*

SEM : Standard error mean / *Ecart type de la moyenne.*

Per cent increase/decrease over that of untreated control in parentheses.

Le pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport au témoin non traité est indiqué entre parenthèses.

Egg productivity :

The number of eggs laid was increased in all the hormone-treated groups. The maximum increase (29 %) occurred after the treatment with Manta followed by thyroxine. However, the hatchability of eggs has not been studied.

Table II. Effect of the application of Manta at 48 hr after the IV instar followed by thyroxine at 72 hr after the ecdysis in V instar larvae.

Tableau II. Effet de l'application de Manta 48 heures après le début du 4e âge puis de thyroxine 72 heures après l'ecdysis chez les larves du 5e âge.

Group	Treatment	Female			Male		
		Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Cocoon shell ratio (%)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Cocoon shell ratio (%)
Groupe	Traitement	Femelle			Mâle		
		Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
1	Manta + thyroxine	1.224* (118)	0.146* (119)	11.95 20.19** (100)	0.912* (110)	0.138* (122)	15.10 22.83** (100)
2	Manta (control) (témoin)	1.105 (106)	0.130 (106)	11.76 19.99** (99)	0.830 (101)	0.121 (107)	14.53 22.59** (100)
3	Thyroxine (control) (témoin)	1.148* (110)	0.137* (111)	11.98 20.21** (101)	0.845 (102)	0.122 (108)	14.45 22.30** (105)
4	Distilled water Eau distillée (control / témoin)	1.021 (98)	0.123 (100)	11.97 20.19** (101)	0.831 (101)	0.115 (102)	13.87 21.65** (101)
5	Untreated control Témoin non traité	1.037 (100)	0.123 (100)	11.89 20.13** (100)	0.823 (100)	0.113 (100)	13.74 21.73** (100)
SEM +		0.038	0.005	NS	0.022	0.004	NS
CD at 5 %		0.108	0.014		0.064	0.012	

* Significant at 5 % / Significatif à 5 %.

** Angular transformed figures / Transformées angulaires.

SEM : Standard error mean / Ecart type de la moyenne.

Per cent increase/decrease over that of untreated control in parentheses.

Le pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport au témoin non traité est indiqué entre parenthèses.

Cocooning and moth emergence percentages :

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

Female and male cocoon weights and their shell weights :

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

The increase/decrease in male and female cocoon shell ratio is given in Tables I and II. There was no significant difference in the parameters of the distilled water treated controls when compared with the corresponding parameters of untreated controls.

From the present study (Tables I and II) it is evident that there is a 20.5 % increase in the cocoon shell weight (average of both sexes) after the treatment with Manta followed by thyroxine. Even after taking into consideration the decreased cocooning percentages, there is a 4 % (average of both sexes) increase in the cocoon shell weight when compared with that of the untreated controls. The treatment with Manta followed by thyroxine has increased the fecundity by 29 % when compared to that of the untreated controls. Hence the treatment with Manta followed by thyroxine may be used to increase the silk and egg production in the Pure Mysore race of *B. mori*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author (SBM) is grateful to the Member-Secretary, Central Silk Board, Govt. of India, Bangalore, for granting study leave. Our thanks are due to Dr R. Govindan, University of Agricultural Sciences, Dharwad, for providing facilities.

REFERENCES

- AKAI H., KOBAYASHI M. (1971) Induction of prolonged larval instar by the juvenile hormone in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Appl. Ent. Zool., 6, 1938-1939.
- AKAI H., KIUCHI K., MORI K. (1971) Increased accumulation of silk protein accompanying JH-induced prolongation of larval life in *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). Appl. Ent. Zool., 6, 218-220.
- AKAI H., KIGUCHI K., MORI K. (1973) The influence of juvenile hormone on the growth and metamorphosis of *Bombyx mori* larvae. Bull. Sericult. Expt. Sta., 25, 287-287.
- AKAI H., KIMURA K., KIUCHI M., SHIBUKAWA A. (1985) Increase of silk production by repeated treatment with a juvenile hormone analogue. J. Seric. Sci. Japan, 54, 297-299.
- AMORI S., OZAWA Y., NISHIMURA M. (1977) Timely administration of synthetic compounds with juvenile hormone activity to silkworm larvae reared on an artificial diet. J. Seric. Sci. Japan, 46, 287-305.
- CHEN E.Y., FENG H., GUO F. (1982) Effect of juvenile hormone analogue on the protein content and development of silkgland in 5th instar silkworm. Insect Knowledge, 19, 25-28.
- CHOUDHURI A., MEDDA A.K. (1985) Growth stimulating effect of thyroxine on female and male silkworm, *Bombyx mori* L. Ind. J. Physiol. & Allied Sci.
- CHOUDHURI A., MEDDA A.K. (1986) Changes in protein and nucleic acid content of male gonad of silkworm, *Bombyx mori* L., at different developmental stages after thyroxine treatment. Proc. Nat. Acad. Sci. India, 56B, 300-304.

- KAMADA A., SHIMADA S., ASANO S. (1979) Studies on utilisation of methoprene, a synthetic compound with juvenile hormone activity, for silkworm rearing. I : Effect on the development of fifth instar larvae. J. Seric. Sci. Japan, 48, 129-136.
- KIMURA K., KIUCHI M., AKAI H. (1986) Effect of JH analogue and anti JH treatments on the number and size of the silkworm eggs. J. Seric. Sci. Japan, 55, 315-319.
- KOBARI Y., AKAI H. (1978) Utilization of Manta (synthetic compound with juvenile hormone activity) for the silkworm rearing. J. Seric. Sci. Japan, 48, 37-42.
- KOBARI Y., AKAI H. (1979) On quantitative increase of silk production by the administration of juvenile hormone (Manta). J. Seric. Sci. Japan, 49, 73-76.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. CSRTI Mysore, Bull. No. 2, 1-24.
- KRISHNASWAMI S. BENCHAMIN K.V., RAGHURAMAN R., GEETADEVI R.G. (1981) Studies on the effect of juvenile hormone analogue 2R512 in silkworm, *Bombyx mori* L., to improve silk yield. Proc. Symp. Sericul. TNAU, Coimbatore, 124-129.
- MAGADUM S.B., HOOLI M.A. (1988) Effect of thyroxine on the polyvoltine silkworm, the Pure Mysore breed of *Bombyx mori* L. Environ. Ecol., 6, 863-868.
- MAGADUM S.B., HOOLI M.A. (1989) Effect of Manta on the cocoon parameters in polyvoltine silkworm, Pure Mysore breed of *Bombyx mori*. Environ. Ecol., 7, 833-837.
- MUJUMDER A.C., MEDDA A.K. (1975) Studies on the thyroxine and vitamin B12 induced changes in the life cycle of silkworms. Ind. J. Physiol. Allied Sci., 29, 1-13.
- MEDDA A.K., RAY A.K., DAS GUPTA A.K., MUJUMDER A.C., DEY C.D. (1980) "In Thyroid Research VIII". Proc. 8th Internat. Thyroid Changes. Ed. Stockigt J.R. and Nagati S., Australian Acad. of Sci., Canberra, p. 240.
- RAGHAVA RAO D. (1983) Statistical techniques in agriculture and biological research. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi.
- SHIBUKAWA A., AKAI H. (1981) Effect of Manta on the silk production of a silkworm race producing heavy cocoon shells. J. Seric. Sci. Japan, 50, 73-76.
- SHIGEMATSU H. (1978) The nature of juvenoid effects on growth and changes of protein, amino acids and nucleic acid content in silkworm, *Bombyx mori*, in the case of application of excessive dose. J. Seric. Sci. Japan, 47, 292-300.
- SHIMADA S., KAMADA A., ASANO S. (1979) Studies on the utilization of methoprene, a synthetic compound with juvenile hormone activity, for the silkworm rearing : II An aspect of silk formation in the silkworm, *Bombyx mori*, applied with methoprene examined by vital staining with thionine. J. Seric. Sci. Japan, 48, 282-286.
- THYAGARAJ B.S., JOLLY M.S., DATTA R.K., MURTHY CUN (1985) Effect of thyroxine on silk improvement in *Bombyx mori*. Indian J. Seric., 24, 77-82.
- WASHIDA S. (1984) Influence of juvenile hormone analogues applied at fourth instar on larval growth and cocoon weight in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Japan, 53, 210-215.
- WU T.N., HU C.Y., QUO F. (1978) Effect of juvenile hormone analogue on the nucleic acid metabolism on the posterior silk gland in silkworm, *Bombyx mori* L. Acta Entomologica Sinica, 21, 290-296.

EFFET D'APPLICATIONS D'UN ANALOGUE D'HORMONE JUVENILE AU QUATRIEME AGE SUIVIES D'APPLICATIONS DE THYROXINE CHEZ LA SOUCHE PURE MYSORE DE *BOMBYX MORI* (L.)

S.B. MADAGUM, M.A. HOOLI & V.B. MAGDUM

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad - 580 003, Inde.

*L'application topique de l'analogue synthétique d'hormone juvénile Manta au 4^e âge 48 heures après la 3^e ecdysis, puis de thyroxine au 5^e âge 72 heures après la 4^e ecdysis entraîne une augmentation significative de la durée larvaire, du poids larvaire, du poids des cocons et des coques mâles et femelles, du poids de la glande séricigène et de la production d'oeufs mais une diminution significative du pourcentage de filage et d'émergence des papillons chez *B. mori*. Les poids des cocons mâles et femelles augmentent respectivement de 18 et 10 % après le traitement avec Manta + thyroxine et les poids des coques de 19 et 22 %.*

INTRODUCTION

Il a été observé que l'administration d'hormone juvénile (HJ) prolongeait la durée larvaire et se traduisait par une augmentation significative du poids du cocon et du poids de la coque chez *B. mori* (Akai et Kobayashi, 1971 ; Akai et coll., 1971). Depuis, plusieurs chercheurs ont démontrés que le traitement aux hormones juvéniles, dont Manta, augmente la durée larvaire (Akai et coll., 1973 ; Kobari et Akai, 1978 ; Shigematsu, 1978 ; Kamada et coll., 1979 ; Shibukawa et Akai, 1981 ; Washida, 1984), le poids larvaire (Shimada et coll., 1979 ; Krishnaswami et coll., 1981), le poids de la glande séricigène et de ses contenus en acides aminés et en acides nucléiques (Shigematsu, 1978 ; Wu et coll., 1978 ; Chen et coll., 1982), du poids du cocon et du poids de la coque (Amori et coll., 1977 ; Kobari et Akai, 1978, 1979 ; Kamada et coll., 1979 ; Krishnaswami et coll., 1981 ; Akai et coll., 1985 ; Magadum et Hooli, 1989) et de la production d'oeufs (Kimura et coll., 1986) chez diverses races de vers à soie.

Un certain nombre de publications démontrent que le traitement à la thyroxine permet d'augmenter le poids de la larve, le poids du cocon (Majumdar et Medda, 1975 ; Medda et coll., 1980 ; Choudhury et Medda, 1985, 1988 ; Thyagaraja et coll., 1985 ; Magadum et Hooli, 1988), la richesse soyeuse et la fécondité (Thyagaraja et coll., 1985) chez différentes races de vers à soie. Ces observations suggèrent que l'administration d'analogue d'hormone juvénile ou de thyroxine permet d'améliorer les paramètres économiques du ver à soie.

Cependant, il n'existe aucune étude sur l'effet des analogues d'hormone juvénile lorsqu'il sont combinés avec de la thyroxine ou d'autres hormones sur les paramètres économiques des vers à soie. Notre étude décrit donc l'effet des applications topiques et consécutives de Manta et de thyroxine sur les paramètres économiques de la souche polyvoltine de *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Les vers à soie polyvoltins ont été élevés en laboratoire (Krishnaswami, 1978). Les larves du quatrième âge ont été réparties en groupes expérimentaux différents. Chaque groupe est composé de 5 réplicats comprenant 20 larves (100 larves). Manta (M/s Otsuka Pharmaceutical Ltd, Osaka, Japon,

cadeau du Dr H. Nishimura, IA Co-op. E. Association, Tokyo) et la thyroxine synthétique (sous forme de sodium thyroxine - M/s Allengburg Pharmaceuticals, Glaxo, Bombay) ont été dilués dans l'eau distillée jusqu'à obtention de solutions de 4 µg/ml et de 1 µg/ml. On a procédé à des applications topiques de Manta sur les larves du groupe 1 au quatrième âge 48 heures après la troisième ecdysis, puis à des applications de thyroxine au cinquième âge 72 heures après la quatrième ecdysis. Les larves de ce groupe (100 larves) ont reçu au total 4 ml (16 µg) de Manta et 4 ml de thyroxine (4 µg). Les larves du groupes 2 ont reçu au total 4 ml (16 µg) de Manta et celles du groupe 3, 4 ml (4 µg) de thyroxine. On a également prévu des témoins traités à l'eau distillée (groupe 4) et des témoins non traités (groupe 5).

Après le traitement, les paramètres pré-cocon, comprenant la durée larvaire, le poids larvaire et le poids de la glande séricigène, et les paramètres post-cocon, comprenant les pourcentages de filage et d'émergence des papillons, les poids des cocons mâles et femelles et le poids de leur coque ainsi que la production d'oeufs, ont été mesurés ; les valeurs moyennes des résultats sont présentées dans les tableaux I et II. La durée larvaire et le poids larvaire sont relevés juste avant le début du filage à la fin du dernier âge larvaire. Les données obtenues ont été soumises à l'analyse de variance unidimensionnelle afin de déterminer la signification entre les paramètres correspondants des groupes traités et des groupes non traités (Raghava Rao, 1983). Les pourcentages de filage, d'émergence des papillons, de la richesse soyeuse mâle et femelle sont transformées en valeurs angulaires sinusoides pour l'analyse statistique. L'indice de pourcentage est calculé pour chacun des paramètres des groupes expérimentaux en fonction des paramètres correspondants des témoins non traités. Les données obtenues sur les effets du traitement consécutif de Manta et de thyroxine sur les paramètres sont résumées dans les tableaux I et II.

RESULTATS ET DISCUSSION

Durée larvaire et poids larvaire :

Les résultats indiquent que la durée larvaire et le poids larvaire augmentent de manière significative après le traitement avec Manta ou avec Manta + thyroxine. On a observé que le traitement avec Manta augmentait la durée larvaire, et de ce fait, la période de nourrissage ce qui se traduit par une augmentation du poids larvaire (Kobari et Akai, 1978 ; Washida, 1984). A l'inverse, dans cette étude et dans des travaux antérieurs (Majumdar et Medda, 1975 ; Thyagaraja et coll., 1985 ; Magadum et Hooli, 1988), le traitement à la thyroxine réduit la durée larvaire mais augmente le poids larvaire ; on a suggéré que cela était dû à un effet stimulant de la thyroxine sur la croissance des larves. Lorsqu'ils sont appliqués individuellement, Manta et la thyroxine ont des effets opposés sur la durée larvaire. Les résultats de notre étude suggèrent que l'effet de raccourcissement de la thyroxine sur la durée larvaire est annulé lorsqu'elle est administrée aux larves du cinquième âge traitées préalablement avec Manta au 4^e âge.

Poids de la glande séricigène :

Le poids de la glande séricigène augmente de manière significative après traitement avec Manta suivi de thyroxine ainsi qu'après traitement avec Manta ou à la thyroxine. Des résultats identiques ont été observés après traitement à l'hormone juvénile ou avec des analogues d'hormones juvéniles chez des souches japonaises de vers à soie (Akai et Kobayashi, 1971 ; Akai et coll., 1973 ; Shigematsu, 1979). L'augmentation du poids de la glande séricigène après administration de Manta ou de Manta suivie de thyroxine pourrait être due à l'augmentation de la synthèse des protéines de la soie, de la réplication d'ADN et de l'accumulation d'ARN dans la glande séricigène (Akai et coll., 1971 ; Amori et coll., 1977, Chen et coll., 1982). L'augmentation du poids de la glande séricigène après traitement à la thyroxine pourrait être due à l'effet stimulant de la thyroxine sur l'activité synthétique de la glande séricigène.

Production d'oeufs :

Le nombre d'oeufs pondus augmente chez tous les groupes traités aux hormones. L'augmentation maximale (29 %) apparaît après le traitement avec Manta + thyroxine. Le taux d'éclosion des oeufs n'a pas été étudié.

Pourcentages de filage et d'émergence des papillons :

Les pourcentages de filage et d'émergence des papillons diminuent de manière significative chez tous les groupes traités aux hormones à l'exception du pourcentage d'émergence des papillons chez le groupe traité avec Manta qui est plus élevé que chez les témoins non traités. Dans leur ensemble, les résultats suggèrent que le taux de mortalité des larves et des chrysalides augmente après le traitement avec Manta + thyroxine ou après le traitement à la thyroxine uniquement.

Poids des cocons et des coques mâles et femelles :

Les poids des cocons et des coques mâles et femelles augmentent de manière significative après le traitement avec Manta + thyroxine et après le traitement à la thyroxine hormis le poids du cocon et de la coque mâles après traitement à la thyroxine. L'administration de Manta n'a pas d'effet significatif sur ces paramètres. Les résultats de notre étude suggèrent que le traitement avec Manta + thyroxine permet d'obtenir des cocons et des coques plus lourds chez les deux sexes que chez les groupes traités uniquement avec Manta ou à la thyroxine.

L'augmentation et/ou la diminution de la richesse soyeuse mâle et femelle sont données dans les tableaux I et II. Il n'y a pas de différence significative entre les paramètres des groupes traités à l'eau distillée et ceux des témoins non traités.

Cette étude (Tableaux I et II) permet d'observer une augmentation de 20,5 % du poids de la coque (moyenne des deux sexes) après le traitement avec Manta + thyroxine. Même en tenant compte de la diminution du pourcentage de filage, on observe une augmentation de 4 % (moyenne des deux sexes) du poids de la soie par rapport à celui des témoins non traités. Le traitement avec Manta suivi de thyroxine peut être utilisé pour augmenter la production d'oeufs et le rendement en soie chez la souche Pure Mysore de *Bombyx mori*.

EFFECT OF FEEDING COPPER SULPHATE ON THE ECONOMIC PARAMETERS OF THE POLYVOLTINE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

S.B. MAGADUM*, M.A. HOOLI & V.B. MAGDUM

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad - 580 008, India.

The feeding of mulberry leaves soaked separately in 15, 30 and 45 ppm solutions of copper sulphate to the silkworm larvae from the beginning of the IIIrd instar to the end of the feeding period in the Vth instar significantly increased the larval weight and female cocoon shell weight but significantly decreased the larval duration, cocooning and moth emergence percentages in B. mori. The cocoon shell was increased by 13.0, 15.0 and 14.5 % in the larvae fed with mulberry leaves soaked in 15, 30 and 45 ppm solutions of copper sulphate, respectively.

Keywords : Copper sulphate, cocoon parameters, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

The feeding of lead, copper and arsenate along with the artificial diet has been reported to affect growth and development in the silkworm, *Bombyx mori* (Miyoshi *et al.*, 1978). The feeding of mulberry leaves soaked in cobalt chloride or potassium iodide is shown to enhance the larval weight, cocoon shell weight and egg productivity in the nistari race of *B. mori* (Chakraborti and Medda, 1978a, 1978b). The detailed studies on the effect of copper sulphate on the economic parameters of *B. mori* are lacking and hence in the present study the effect of feeding with copper sulphate on the economic parameters of the Pure Mysore breed of *B. mori* is reported.

MATERIALS AND METHODS

The silkworms reared in the laboratory following the improved method of silkworm rearing (Krishnaswami, 1978) were used in the present study. The third instar larvae of the Pure Mysore race of *B. mori* were randomly selected and grouped into three experimental groups (1, 2, 3) and a control group (4). Each group consisted of 100 worms (20 × 5 replications). A known quantity of copper sulphate obtained from M/s British Drug House (Bombay, India) was dissolved in a small quantity of distilled water and then diluted to form 15, 30 and 45 ppm solutions in distilled water. The mulberry leaves freshly collected from the field, soaked in 15, 30 and 45 ppm solutions of copper sulphate for 30 minutes and dried at room temperature, were fed to 1st, 2nd and 3rd experimental groups, respectively. The control group was fed with distilled water treated mulberry leaves dried at room temperature. The dietary supplementation of each concentration of the chemical was started from the beginning of the IIIrd instar up to the end of the feeding period in the Vth larval instar.

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

The larvae were fed four times a day. In treated groups the larvae were fed twice with copper sulphate treated mulberry leaves alternating with two feeds of untreated leaves. The controls were fed twice with distilled water treated leaves alternating with two feeds of untreated leaves. The quantity of copper sulphate fed to each group is not known. The total quantity of feed supplied to each group per day was similar in each larval instar.

After completion of feeding, pre-cocooning parameters such as larval weight, larval duration and larval silk gland weight were recorded. The larval duration was calculated from the day of hatching to the end of the last larval instar and the silk gland weight was also taken just before the commencement of spinning in the last larval instar. Post-cocooning parameters such as the female and male cocoon weights, their shell weights, cocooning and moth emergence percentages were noted in the post-cocooning period and the egg productivity was recorded in the adult after mating. The experiments were conducted twice to conclude the results.

The data collected were subjected to one-way analysis of variance test to find out the significance between the corresponding parameters of each experimental and control group (Raghava Rao, 1983). The per cent values for cocooning and moth emergence percentages, female and male cocoon shell ratios were transformed into sine angular values for statistical analysis. The per cent index was calculated for each parameter of the experimental groups over that of the corresponding parameters of the controls and the results are shown in Tables I and II.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on the effect of feeding of copper sulphate on the pre-cocooning and post-cocooning parameters studied are summarised in Tables I and II.

Larval weight and larval duration :

It is reported that the feeding of copper along with artificial diet is toxic to the young silkworm, *B. mori* (Miyoshi *et al.*, 1978). The feeding of potato plants treated with copper sulphate is shown to increase the larval weight up to the 3rd instar stage in the beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Izhevskiy, 1976). The results of the present study have shown that the larval weight is significantly increased, whereas larval duration is significantly decreased in all the copper sulphate treated groups when compared with the corresponding parameters of controls. The increase in the larval weight after copper sulphate feeding might be due to increased midgut enzyme activity, since the feeding of copper sulphate is reported to increase the midgut enzyme activity in the beetle, *L. decemlineata* (Izhevskiy, 1976). The reason for decreased larval duration after feeding with copper sulphate is not known.

Weight of silk gland :

The feeding of all the three concentrations of copper sulphate relatively increased the larval silk gland weight when compared to that of the controls. The increase in the silk gland weight in the present study might possibly be due to the increased metabolic activity of the silk gland as reported in the case of cobalt chloride feeding in the nistari race of *B. mori* (Bhattacharyya and Medda, 1981).

Cocoon weight and cocoon shell weight :

The results of the present study indicate that feeding of copper sulphate had no significant effect on the female and male cocoon shell weights. The feeding of 15 ppm copper sulphate had no effect on the female cocoon weight while feeding of 30 and 45 ppm copper sulphate significantly increased the female cocoon shell weight when compared with that of the controls. The increase/decrease in the cocoon shell ratio is given in Table II.

Percentages of cocooning and moth emergence :

The feeding of all the three concentrations of copper sulphate significantly decreased the cocooning percentage. The moth emergence percentage was significantly decreased in all the larval groups fed with copper sulphate when compared to that of controls. These results suggest that mortality rate of larvae and pupae was increased after feeding with copper sulphate. This might be due to the possible toxic effect of copper sulphate. Similar results were reported after feeding with

copper sulphate in *L. decemlineata* (Izhevskiy, 1976) and high concentration of potassium iodide in the nistari race of *B. mori* (Mujumdar, 1982).

Table I. Effect of feeding mulberry leaves soaked in copper sulphate on the economic parameters of *Bombyx mori*.

Table I. Effet du nourrissage avec des feuilles de mûrier imbibées de sulfate de cuivre sur les paramètres économiques de Bombyx mori.

Group	Concentration of chemical (ppm)	Total larval period (hr)	Larval weight (g)	Weight of silk gland (g)	Cocooning (%)	Moth emergence (%)	No. of eggs produced
Groupe	Concentration du produit (ppm)	Durée larvaire totale (hr)	Poids larvaire (g)	Poids de la glande séricigène (g)	Filage (%)	Emergence des papillons (%)	Nombre d'oeufs pondus
1. Copper sulphate 1. Sulfate de cuivre	15	742* (94)	1.796* (123)	0.475* (144)	92.20* 73.78** (96)	86.1* 68.92** (95)	474* (140)
2. Copper sulphate 2. Sulfate de cuivre	30	766* (97)	2.176* (150)	0.456* (139)	84.32* 66.69** (88)	71.2* 57.44** (79)	443* (131)
3. Copper sulphate 3. Sulfate de cuivre	45	770* (97)	2.062* (142)	0.430* (131)	92.1* 73.78** (96)	80.0* 63.50** (88)	432* (128)
4. Controls 4. Témoins	0	790 (100)	1.446 (100)	0.329 (100)	95.60 77.67** (100)	90.3 71.83** (100)	338 (100)
SEM ±		1.56	0.019	0.021	1.51	1.39	14.68
CD at 5 %		4.57	0.26	0.063	4.36	4.0	42.17

* Significant increase/decrease at 5 % / Augmentation/diminution significative à 5%.

** Angular transformed figures / Transformées angulaires.

SEM : Standard error mean / Ecart type de la moyenne.

CD : Critical difference / Intervalle de confiance.

Per cent increase/decrease over that of controls in parentheses.

Pourcentage d'augmentation ou diminution par rapport aux témoins entre parenthèses.

Table II. Effect of feeding mulberry leaves soaked in copper sulphate on the economic parameters of *Bombyx mori*.

Table II. Effet du nourrissage avec des feuilles de mûrier imbibées de sulfate de cuivre sur les paramètres économiques de *Bombyx mori*.

Group	Concentration of chemical (ppm)	Female			Male		
		Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Cocoon shell ratio (%)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Cocoon shell ratio (%)
Groupe	Concentration du produit (ppm)	Femelle			Mâle		
		Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
1. Copper sulphate 1. Sulfate de cuivre	15	1.127 (88)	0.127 (112)	11.22 19.53** (106)	0.834 (107)	0.130 (114)	15.62 23.26** (106)
2. Copper sulphate 2. Sulfate de cuivre	30	1.236 (97)	0.139* (123)	11.24 19.47** (106)	0.832 (107)	0.124 (108)	14.81 22.76** (101)
3. Copper sulphate 3. Sulfate de cuivre	45	1.192 (94)	0.135* (119)	11.32 19.61** (107)	0.841 (108)	0.126 (110)	14.73 22.60** (100)
4. Controls 4. Témoins	0	1.269 (100)	0.113 (100)	10.59 18.96** (100)	0.777 (100)	0.114 (100)	14.68 22.51** (100)
SEM ± CD at 5 %		NS	0.005 0.016	NS	NS	NS	NS

* Significant increase/decrease at 5 % / Augmentation/diminution significative à 5%.

** Angular transformed figures / Transformées angulaires.

SEM : Standard error mean / Ecart type de la moyenne.

CD : Critical difference / Intervalle de confiance.

Per cent increase/decrease over that of controls in parentheses.

Pourcentage d'augmentation ou diminution par rapport aux témoins entre parenthèses.

Number of eggs produced (egg productivity) :

The average number of eggs produced per moth obtained from all the copper sulphate fed larval groups was significantly increased when compared with that of controls but as far as the decreased moth emergence percentage is considered, the total number of eggs produced by surviving moths in group 1 is increased by 36 % when compared with that of the surviving moths in the control group, whereas in 2 and 3 it is increased by 6 and 16 %, respectively, when compared to that of surviving moths in the control group. These results suggest that the feeding of low concentrations of copper sulphate improves the egg productivity whereas feeding of high concentrations of copper sulphate adversely affects the egg productivity in *B. mori*.

The results of the present study suggest that the feeding of mulberry leaves soaked in 15, 30 and 45 ppm concentrations of copper sulphate solution to the larvae of groups 1, 2 and 3, respectively, increased the cocoon shell weight (average of both sexes) by 13, 15 and 14.5 %, respectively. As far as the decreased cocooning percentage is concerned the increase in the cocoon shell weight (average of both sexes) is 11.9, 12.6 and 13.3 %, respectively, when compared to that of the controls.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author (SBM) is grateful to the Member-Secretary, Central Silk Board, Government of India, Bangalore, for granting study leave.

REFERENCES

- BHATTACHARYYA A., MEDDA A.K. (1981) Effect of cyanocobalamine and cobalt chloride on glycogen content of silkgland of *Bombyx mori* L., race Nistari. Sci. and Cult., 77, 268-270.
- CHAKRABORTHY M.K., MEDDA A.K. (1978a) Effect of potassium iodide on silkworms (*Bombyx mori* L.) Nistari race. Sci. and Cult., 44, 231-233.
- CHAKRABORTHY M.K., MEDDA A.K. (1978b) Effect of cobalt chloride on silkworm (*Bombyx mori* L.) Nistari race. Sci. and Cult., 44, 406-408.
- IZHEVSKIY S.S. (1976) The physiological effects of mineral salt on *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera : Chrysomelidae). Ekyologia, 4, 90-92.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bull. CSRTI Mysore, 2, 1-24.
- MIYOSHI T., MIYAZAWA F., SHIMIZU O.C. (1978) Effect of heavy metals on mulberry plant and silkworm. IV : The relation between different compounds of heavy metals by the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Seric. Sci. Japan, 47, 101-107
- MUJUMDAR A.C. (1982) Note on the physiological effects on growth and reproduction of silkworm fed on mulberry leaves soaked in potassium iodide. Indian J. Agric. Sci., 52, 250-252.
- RAGHAVA RAO D. (1983) Statistical Techniques in Agricultural and Biological Research. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi.

EFFET DU NOURRISSAGE AVEC DU SULFATE DE CUIVRE SUR LES PARAMETRES ECONOMIQUES DU VER A SOIE POLYVOLTIN (*BOMBYX MORI* L.)

S.B. MAGADUM, M.A. HOOLI & V.B. MAGDUM

Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad - 580 008, Inde.

*L'alimentation avec des feuilles de mûriers imbibées de sulfate de cuivre par trempage dans des solutions à 15 ppm, 30 ppm et 45 ppm des larves de vers à soie *Bombyx mori* à partir du début du 3e âge jusqu'à la fin de la période de nourrissage au cinquième âge entraîne une augmentation significative du poids larvaire et du poids de la coque femelle mais une diminution significative de la durée larvaire, du filage et de l'émergence des papillons. Le poids de la coque augmente de 13,0, 15,0 et 14,5 % chez les larves nourries de feuilles de mûriers imbibées respectivement de solutions de sulfate de cuivre à 15, 30 et 45 ppm.*

INTRODUCTION

On a observé que l'addition de plomb, de cuivre et d'arséniate aux aliments artificiels affectait la croissance et le développement du ver à soie *Bombyx mori* (Miyoshi et coll., 1978). On a démontré que le nourrissage à base de feuilles imbibées de chlorure de cobalt ou de iodure de potassium augmentait le poids larvaire, le poids de la coque et la productivité d'oeufs chez la race nistari de *B. mori* (Chakraborti et Medda, 1978a, 1978b). Il n'existe pas d'études détaillées sur l'effet du sulfate de cuivre sur les paramètres économiques de *B. mori* ; cette étude décrit donc l'effet du nourrissage avec du sulfate de cuivre sur les paramètres économiques de la souche Pure Mysore de *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Pour cette étude, on a utilisé des vers à soie élevés en laboratoire suivant la méthode améliorée de Krishnaswami (1978). Les larves au 3^e âge de la race Pure Mysore de *B. mori* ont été prélevées au hasard et réparties en trois groupes expérimentaux (1, 2, 3) et un groupe témoin (4). Chaque groupe comprend 100 larves (20 × 5 réplicats). Une quantité déterminée de sulfate de cuivre provenant de M/s Bristish Drug House (Bombay, Inde) est dissoute dans une petite quantité d'eau distillée, puis diluée dans l'eau distillée afin de constituer des solutions à 15, 30 et 45 ppm. Les feuilles de mûrier fraîches, trempées dans les solutions de sulfate de cuivre à 15, 30 et 45 ppm pendant 35 minutes et séchées à température ambiante, sont données comme aliments respectivement aux 1^{er}, 2^e et 3^e groupes expérimentaux. Le groupe témoin est nourri de feuilles de mûrier traitées à l'eau distillée et séchées à température ambiante. Le traitement commence au début du 3^e âge jusqu'à la fin de la période de nourrissage au 5^e âge larvaire pour chacune des concentrations du produit chimique. Les larves sont nourries quatre fois par jour. Chez les groupes traités, les larves sont nourries deux fois avec des feuilles de mûrier traitées au sulfate de cuivre en alternance avec deux nourrissages avec des feuilles non traitées. Les témoins sont nourris deux fois avec des feuilles traitées à l'eau distillée en alternance avec deux nourrissages avec des feuilles non traitées. La quantité de sulfate de cuivre donnée à chaque groupe n'est pas déterminée. La quantité totale journalière de nourriture fournie à chaque groupe est identique pour tous les âges larvaires.

Après la période de nourrissage, les paramètres pré-filage, comme le poids larvaire, la durée larvaire et le poids de la glande séricigène, sont relevés. La durée larvaire est déterminée en fonction de la date d'éclosion jusqu'à la fin du dernier âge larvaire et le poids de la glande séricigène est également relevé juste avant le début du filage au dernier âge larvaire. Les paramètres post-filage comme le poids des cocons mâles et femelles, le poids de leur coque, le filage et le pourcentage d'émergence des papillons sont notés pendant la période post-filage et la productivité en oeufs est enregistrée chez l'adulte après l'accouplement. Les expériences sont réalisées deux fois avant la conclusion des résultats.

Les données recueillies sont soumises à l'analyse de variance unidimensionnelle afin de déterminer si les différences entre les paramètres correspondants de chaque groupe expérimental et témoin sont significatives (Raghava Rao, 1983). Les valeurs des pourcentages de filage et d'émergence et de la richesse soyeuse des mâles et des femelles sont transformées en valeurs sinus angulaires pour permettre l'analyse statistique. L'indice est calculé en pourcentage pour chacun des paramètres des groupes expérimentaux par rapport aux paramètres correspondants des témoins.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données sur l'effet du nourrissage avec du sulfate de cuivre sur les paramètres pré- et post-filage étudiés sont résumées dans les tableaux I et II.

Poids larvaire et durée larvaire :

On a observé que l'incorporation de cuivre dans l'aliment artificiel est toxique pour les jeunes larves de *B. mori* (Miyoshi et coll., 1978). Le nourrissage avec des plants de pommes de terre traités au sulfate de cuivre augmente le poids larvaire jusqu'à la fin du 3^e âge chez le coléoptère *Leptinotarsa decemlineata* (Izhevskiy, 1976). Les résultats de cette étude montre que le poids larvaire augmente de manière significative, tandis que la durée larvaire diminue significativement chez tous les groupes traités au sulfate de cuivre par rapport aux témoins. L'augmentation du poids larvaire après nourrissage au sulfate de cuivre pourrait être due à un accroissement de l'activité enzymatique de l'intestin moyen, comme cela a été observé chez le coléoptère *L. decemlineata* (Izhevskiy, 1976). La raison de la diminution de la durée larvaire après nourrissage au sulfate de cuivre n'est pas connue.

Poids de la glande séricigène :

Le nourrissage avec les trois concentrations de sulfate de cuivre entraîne une augmentation relative du poids de la glande séricigène par rapport à celui du témoin. L'augmentation du poids de la glande séricigène observée dans cette étude pourrait être due à une augmentation de l'activité métabolique dans la glande séricigène, ainsi qu'il a été observé dans le cas du nourrissage avec du chlorure de cobalt chez la race nistari de *B. mori* (Bhattacharyya et Medda, 1981).

Poids du cocon et poids de la coque :

Les résultats présentés ici indiquent que le nourrissage à base de sulfate de cuivre n'a pas d'effet significatif sur le poids des coques mâles et femelles. Le nourrissage avec du sulfate de cuivre à 15 ppm n'a aucun effet sur le poids de la coque femelle, tandis que le nourrissage avec du sulfate de cuivre à 30 et 45 ppm entraîne une augmentation significative du poids de la coque femelle par rapport à celui des témoins. L'augmentation et/ou la diminution de la richesse soyeuse est donnée dans le tableau II.

Pourcentages de filage et d'émergence des papillons :

Le nourrissage avec les trois concentrations de sulfate de cuivre entraîne une diminution significative du pourcentage de filage. Le pourcentage d'émergence des papillons diminue également de manière significative chez tous les groupes traités au sulfate de cuivre par rapport aux témoins. Ces résultats suggèrent que le taux de mortalité des larves et des chrysalides augmente après traitement au sulfate de cuivre. Ceci pourrait être dû à l'effet toxique du sulfate de cuivre. Des résultats similaires ont été observés après nourrissage au sulfate de cuivre chez *L. decemlineata* (Izhevskiy, 1976) et à de fortes concentrations de iodure de potassium chez la race nistari de *B. mori* (Mujumdar, 1982).

Nombre d'œufs produits (productivité en œufs) :

Le nombre d'œufs produits par papillon issu de tous les groupes de larves traitées au sulfate de cuivre est significativement supérieur à celui des témoins. Cependant, compte tenu de la diminution du pourcentage d'émergence des papillons, le nombre d'œufs produits par les papillons survivants du groupe 1 est supérieur de 36 % à celui des papillons survivants du groupe témoin, alors que chez les groupes 2 et 3, il est supérieur respectivement de 6 et 16 % par rapport celui des papillons survivants du groupe témoin. Ces résultats suggèrent que le nourrissage avec de faibles concentrations de sulfate de cuivre permet d'améliorer la productivité en œufs alors que le nourrissage avec des concentrations élevées de sulfate de cuivre a un effet négatif sur la productivité en œufs chez *B. mori*.

Les résultats présentés dans cette étude suggèrent que le nourrissage avec des feuilles de mûrier imbibées de sulfate de cuivre dans des concentrations de 15, 30 et 45 ppm des larves des groupes 1, 2 et 3 entraîne une augmentation du poids de la coque (moyenne des sexes) de 13, 15 et 14,5 %, respectivement. En tenant compte de la diminution du pourcentage de filage, l'augmentation du poids de la coque (moyenne des deux sexes) est de 11,9, 12,6 et 13,3 % par rapport à celui des témoins.

EFFECT OF 1-TRIACONTANOL AND "FASAL" ON THE GROWTH AND YIELD OF MULBERRY, *MORUS ALBA*, AND *BOMBYX MORI*

R.F. ANKALGI & M.F. ANSARI*

Department of Chemistry, Nehru College, Hubli - 580 020, India.

* Department of Zoology and Sericulture, Nehru College, Hubli - 580 020, India.

*The effect of different concentrations of 1-triacontanol and 1-triacontanol-based product "Fasal" on the growth and yield of mulberry in the fields, and the effect after feeding the treated leaves to the larvae of *Bombyx mori* were studied. The maximum growth of mulberry shoots was 147 cm, total number of leaves in each shoot was 35, total weight of fresh leaves in each shoot was 111.1 g when treated with 1 mg/l 1-triacontanol, resulting in a 124.29 % increase over the control. The minimum mortality of larvae was 4.31 % and the maximum weight of a single fresh cocoon of *Bombyx mori* variety NB4D2 was 2.110 g when the larvae were fed with leaves sprayed with 1 mg/l 1-triacontanol from the fields. The use of Fasal resulted in a 110.56 % increase in mulberry leaf production. The use of 1-triacontanol in the field of sericulture is a new area of research to study the physiological and biochemical aspects of *Morus alba* and *Bombyx mori*.*

Keywords : 1-triacontanol, *Morus alba*, *Bombyx mori*, mulberry, disease resistance, mortality, sericulture, Fasal.

INTRODUCTION

Mulberry is the only natural food for *Bombyx mori*. The quality and quantity of mulberry leaf production depends on varieties, climatic conditions, nature of the soil, method of planting, manuring, etc., which were well described by Shimizu and Tajima (1972), Japan Overseas Co-operation Volunteers (1975), Rangaswami *et al.* (1976) and Krishnaswami (1978).

It is a well-established fact that the growth in plants is regulated by the action and interaction of growth hormones like auxins, gibberellins and cytokinins. In mulberry the artificial induction of rooting was studied using naphthalene acetic acid, indole-butyric acid and indole-acetic acid, which are proved to be better in producing roots (Prahlaad Rao and Abdul Azeed Khan, 1963 ; Tsuboi and Honda, 1971 ; Mukherjee and Sikdar, 1977).

Since 1-triacontanol, a fatty alcohol of C30 chain length, promotes the growth and yield in different crops (Ries *et al.*, 1978 ; Qian *et al.*, 1984), in the present investigations an attempt has been made to study the effect of 1-triacontanol and its synergistic combination on the growth and yield of mulberry leaf and its effect on the larvae of *Bombyx mori* while rearing.

MATERIALS AND METHODS

About five-year-old, irrigated, black-soiled, Kanva-2 variety mulberry plots were selected as study area in Hubli City vicinity. The surface of each plot was 10,800 sq. ft. In each plant only five shoots were retained after harvesting the leaves. 1-triacontanol was obtained from B.D.K. Agro-Chemicals Hubli (India) and compared with that of authentic 1-triacontanol (Sigma, USA) by

GLC, IR and NMR and found 95 % pure. Different concentrations of 1-triacontanol and 1-triacontanol-based product "Fasal" were used as foliar spray. The first foliar spray was given 15 days after harvesting the leaves and subsequently at intervals of 10 days the 2nd and 3rd sprays were given. The observations were made on the growth of the shoot, the number of leaves in each shoot was recorded and the maximum length and breadth of leaf lamina was also noted. The observations were compared with that of control plots which were sprayed with distilled water. The atmospheric temperature and humidity were recorded. The leaves from the control plots and experimental plots were used separately for the rearing of NB4D2 variety of *Bombyx mori* where the feeding of larvae was observed, mortality was recorded and finally the cocoon weights were taken separately.

RESULTS AND DISCUSSION

The use of 1-triacontanol was found to be an effective method of treatment when the plants have 2-3 true leaves (Ries *et al.*, 1978). Hence, the first foliar spray of 1-triacontanol at different concentrations and Fasal were tested in the mulberry fields on Kanva-2 variety of *Morus alba* after 15 days of harvesting the leaves. The atmospheric temperature and relative humidity varied from 17.6 to 32.2 °C ($\bar{X}$ 24.38 °C) and 53 to 110 % ($\bar{X}$ 79.08 %), respectively. There was a significant increase in the length of mulberry shoots, total number of leaves and weight of leaves when 1-triacontanol was used at the rates of 0.1, 1.0 and 5.0 mg/l and Fasal, but the use of 10 mg/l had no effect on the increase of yield compared to that of the control (Table I and Fig. 1).



Fig. 1 : Mulberry plantation after 35 days of treatment, before the last spray.

1.a. sprayed with distilled water (control plot).

1.b. sprayed with "Fasal".

Fig. 1 : Plantation de mûrier 35 jours après le traitement, avant la dernière vaporisation.

1.a. traitée par vaporisation d'eau distillée (parcelle témoin).

1.b. traitée par vaporisation de "Fasal".

Table I. Length of shoots, total number of leaves and total weight of fresh leaves from the shoot of Kanva-2 variety of *Morus alba* after 1-triacontanol and Fasal treatment as foliar spray.

Tableau I. Longueur des pousses, nombre total de feuilles et poids frais total des feuilles de la variété Kanva 2 de *Morus alba* après traitement des feuilles par vaporisation de 1-triacontanol et de Fasal.

Treatment	TFS		Growing time after treatment						
	LS	NL	LS	10 days NL	LS	20 days NL	LS	30 days NL	WL
Traitement	TPT		Durée de croissance après traitement						
	LP	NF	LP	10 jours NF	LP	20 jours NF	LP	30 jours NF	PP
Control¹ Témoin¹	11-13 (12.2)*	2-3 (2.7)	39-53 (46.2)	8-11 (9.9)	63-90 (79.75)	10-19 (14.75)	85-125 (114.4)	13-24 (21.1)	27.1-52.2 (43.93)
1-triacontanol									
0.1	11-13 (12.1)	2-3 (2.7)	40-55 (48.2)	9-13 (10.3)	65-92 (82.40)	12-19 (16.30)	84-126 (120.5)	14-29 (21.6)	30.7-57.7 (47.29)
1.0	11-13 (12.2)	2-3 (2.8)	75-81 (77.9)	15-20 (17.1)	89-101 (96.35)	17-27 (22.6)	135-147 (139.65)	25-35 (31.15)	79.1-111.1 (98.53)
5.0	11-13 (12.2)	2-3 (2.75)	63-71 (67.4)	13-18 (15.6)	74-98 (85.8)	14-22 (19.2)	103-129 (123.3)	16-31 (24.1)	38.8-87.0 (58.51)
10.0	11-13 (12.2)	2-3 (2.8)	51-63 (60.2)	9-12 (10.2)	69-81 (76.2)	13-17 (15.2)	87-123 (110.3)	12-26 (19.7)	26.3-57.8 (43.15)
Fasal**	11-13 (12.2)	2-3 (2.7)	70-83 (76.6)	13-22 (16.4)	87-109 (96.60)	16-29 (22.2)	130-151 (138.60)	21-37 (27.60)	72.4-118.7 (92.48)

TFS : At the time of 1st spray after 15 days of harvesting.

TPT : Au moment de la première vaporisation 15 jours après la récolte.

LS : Length of the shoots in cm.

LP : Longueur des pousses en cm.

NL : Total number of leaves in each shoot.

NF : Nombre total de feuilles par pousse.

WL : Total weight of fresh leaves from each shoot in grams.

PP : Poids frais total de feuilles par pousse en grammes.

1 : Distilled water / Eau distillée.

* Figures in parentheses indicate mean values / Les chiffres entre parenthèses indiquent les valeurs moyennes.

** Formulation based on 1-triacontanol, auxins, fatty acids, fatty alcohols (< C12) for its synergistic activity from BDK Agrochemicals, Hubli (India) / Formule à base de 1-triacontanol, d'auxines, d'acides gras, d'alcools gras (< C12) à activité synergique mise au point par BDK Agrochemical, Hubli (Inde).

Table II. Rate of mortality of larvae and weight of fresh cocoon of NB₄D2 variety of *Bombyx mori* after feeding the mulberry leaves treated with 1-triacontanol and Fasal in the field.

Tableau II. Taux de mortalité des larves et poids d'un cocon frais de la souche NB₄D2 de *Bombyx mori* après nourrissage avec des feuilles de mûrier traitées avec du 1-triacontanol et du Fasal en plein champ.

Treatment ¹ (mg/l)	Mortality of larvae due to flacherie and grasserie (%)	Weight of fresh single cocoon (g)
<i>Traitement¹</i> (mg/l)	<i>Mortalité larvaire</i> <i>due à la flacherie et</i> <i>à la grasserie (%)</i>	<i>Poids frais</i> <i>d'un cocon</i> <i>(g)</i>
Control <i>Témoin</i>	15.79 %	1.310-1.730 (1.553)*
1-triacontanol 0.1	5.44	1.580-1.910 (1.808)
1.0	4.31	1.690-2.110 (1.954)
5.0	4.58	1.570-2.060 (1.922)
10.0	4.63	1.490-1.980 (1.822)
Fasal**	5.73	1.590-2.090 (1.842)

* Figures in parentheses indicate the mean values / *Les chiffres entre parenthèses indiquent les valeurs moyennes.*

** Formulation based on 1-triacontanol, auxins, fatty acids, fatty alcohols, from BDK Agrochemicals, Hubli (India) / *Formule à base de 1-triacontanol, d'auxines, d'acides gras, d'alcools gras, mise au point par BDK Agrochemical, Hubli (Inde).*

1 : 1-triacontanol and Fasal treated mulberry leaves fed to the larvae / *Feuilles de mûrier traitées avec du 1-triacontanol et du Fasal données comme aliment aux larves.*

After 45 days with the 3-spray treatment, in the treated mulberry plots, the length of the shoot was 135-147 cm ($\bar{X}$ 139.65 cm), total number of leaves in each shoot was 25-35 ($\bar{X}$ 31.15), the total weight of fresh leaves from each shoot was 79.1 to 111.1 g ($\bar{X}$ 98.53 g), and the length and breadth of leaf lamina were 21.3-25.9 cm ($\bar{X}$ 23.04 cm) and 18.3-21.2 ($\bar{X}$ 20.05 cm), respectively, with the foliar spray containing 1 mg/l of 1-triacontanol, whereas in the control plots sprayed with distilled water the length of the shoot was 84-125 cm ($\bar{X}$ 114.4 cm), the total number of leaves in each shoot was 13-25 ($\bar{X}$ 21.1), the total weight of fresh leaves in each shoot was 27.1-52.2 g ($\bar{X}$ 43.93 g) and

the leaf lamina was 19.3 to 21.8 cm ($\bar{X}$ 20.98 cm) in length and 14.9 to 18.8 cm ($\bar{X}$ 17.44 cm) in breadth. When Fasal was used as foliar spray, the length of the shoot was 130-151 cm ($\bar{X}$ 138.60 cm), total number of leaves in each shoot was 21-37 ($\bar{X}$ 27.60), the weight of fresh leaves from each shoot was 72.4-118.7 g ($\bar{X}$ 92.43 g). The present observations revealed that the maximum increase of 124.29 % in the yield of mulberry over the control was obtained with the spray containing 1 mg/l 1-triacontanol, and a 110.56 % increase was obtained by using Fasal.

Mulberry leaves sprayed with different concentrations of 1-triacontanol, Fasal and distilled water in the field were used to feed 10 dfls, each separately. Feeding of larvae was found normal in all the cases. At IV and V instars, a 15.79 % mortality of larvae was found because of flacherie and grasserie diseases. However, surprisingly it was observed that the mortality of larvae due to flacherie and grasserie was 5.44 %, 4.31 %, 4.58 %, 4.63 % and 5.73 % when the larvae were fed with the leaves sprayed with 0.1 mg, 1 mg, 5 mg and 10 mg/l 1-triacontanol and Fasal, respectively (Table II). The traces of 1-triacontanol remaining in the leaves might have developed the disease resistance in the body of the silkworms.

Two days after the completion of spinning, cocoons from the different lots were collected at random and weighed. The weight of a single fresh cocoon varied from 1.690 to 2.100 g ($\bar{X}$ 1.954 g) in a lot from which the larvae fed with the leaves sprayed with 1 mg/l 1-triacontanol, whereas the larvae fed with the leaves sprayed with distilled water produced cocoons weighing between 1.310 and 1.730 g ($\bar{X}$ 1.553 g) (Table II). The present results showed that maximum increases of 25.82 % in the cocoon yield over the control was obtained by the spray containing 1 mg/l 1-triacontanol and of 18.55 % by the use of Fasal.

Thus the present studies revealed that the use of 1-triacontanol as foliar spray increased mulberry production. Its effect on the disease resistance in silkworms and increase in silk production is a boost to sericulturists and, in turn, to the silk industry in tropical countries.

The studies on the effect of 1-triacontanol on the physiology and biochemistry of different varieties of *Morus alba* and *Bombyx mori* is a new area of research in the field of sericulture, and can also be studied on the different food plants of wild varieties of silkworms and, in turn, on their production.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge Messrs Bharat B. Khimji, Sachin B. Khimji and Mrs S.R. Ankalgil of B.D.K. Agro-Chemicals Hubli (India) for providing their indigenously prepared 1-triacontanol and product Fasal. The authors are also thankful to Mr B.B. Patil, sericulturist of Hubli City, for having allowed to conduct experiments in his mulberry fields and rearing houses.

REFERENCES

- Japan Overseas Co-operation Volunteers (1975) Textbook of tropical sericulture. Japan Overseas Co-operation Volunteers, Tokyo, 595 pp.
- KRISHNASWAMI S. (1978) Mulberry cultivation in South India. Bull. of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 1, 19 pp.
- MUKHERJEE S.K., A.K. SIKDAR (1977) Effect of auxin, vitamins and their combinations on the rooting of mulberry cuttings. Indian J. Seric., 16, 1-9.
- PRAHALAD RAO L.S., ABDUL AZEEZ KHAN (1963) Vegetative propagation of Japanese mulberry varieties by use of growth regulators. Indian J. Seric., 1(3), 9-23.
- QIAN C.-T. *et al.* (1984) The influence of the mode of formulation on the biological activity of triacontanol. Acta Botanica Sinica, 26(3), 324-327.
- RANGASWAMY *et al.* (1976) Manual of sericulture. Vol. 1 Mulberry cultivation. FAO, Rome, 151.
- RIES S.K., RICHMAN T.L., WERT V.F. (1978) Growth and yield of crops treated with triacontanol. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 103(3), 361-364.
- SHIMIZU M., TAJIMA Y. (1972) Handbook of silkworm rearing. Fuji Publishing Co., Ltd, Tokyo, 319 pp.

TSUBOI A., HONDA T. (1971) The relationship between the time of treatment and the concentration of α -naphthalene acetate for root formation in hardwood cuttings of mulberry tree. J. Sericult. Sci. Japan, 40(1), 23-31.

EFFET DU 1-TRIACONTANOL ET DU "FASAL" SUR LA CROISSANCE ET LE RENDEMENT DU MÛRIER *MORUS ALBA* ET DE *BOMBYX MORI*

R.F. ANKALGI & M.F. ANSARI*

Department of Chemistry, Nehru College, Hubli - 580 020, Inde.

* Department of Zoology and Sericulture, Nehru College, Hubli - 580 020, Inde

*On a étudié l'effet du 1-triacontanol à différentes concentrations et du "Fasal", produit à base de 1-triacontanol, sur la croissance et le rendement du mûrier ainsi que sur des larves de **Bombyx mori** nourries avec des feuilles traitées. La croissance maximale des pousses de mûrier est de 147 cm, le nombre total de feuilles par pousse est de 35, le poids total de feuilles fraîches par pousse de 111,1 g chez les mûriers traités avec 1 mg/l de 1-triacontanol, ce qui correspond à une augmentation de 124,29 % par rapport au témoin. La mortalité minimale des larves est de 4,31 % et le poids maximal d'un cocon frais de **Bombyx mori** de la souche NB4D2 est de 2,110 g lorsque les larves sont alimentées avec des feuilles arrosées avec du 1-triacontanol à 1 mg/l de prélevées dans les champs. L'utilisation de Fasal entraîne une augmentation de 110,56 % du rendement en feuilles des mûriers. L'utilisation de 1-triacontanol dans le domaine de la sériciculture ouvre une nouvelle voie de recherches pour l'étude des aspects physiologiques et biochimiques de *Morus alba* et de *Bombyx mori*.*

INTRODUCTION

Le mûrier est la seule nourriture naturelle de *Bombyx mori*. La qualité et la quantité de la production de feuilles de mûriers dépend de plusieurs facteurs : variétés, conditions climatiques, nature du sol, méthode de plantation et de fumure, etc., facteurs qui ont été décrits par Shimizu et Tajima (1972), Japan Overseas Co-operation Volunteers (1975), Rangaswami et coll. (1976) et Krishnaswami (1978).

On sait que la croissance des végétaux est régulée par l'action et l'interaction d'hormones de croissance telles que les auxines, les gibberellines et les cytokinines. Chez le mûrier, on a étudié l'induction artificielle du racinement à l'aide de l'acide naphthalène-acétique, de l'acide indol-butyrique et de l'acide indol-acétique, qui s'avèrent plus efficaces pour la production de racines (Prahlaad Rao et Abdul Azeez Kahn, 1963 ; Tsuboi et Honda, 1971 ; Mukherjee et Sikdar, 1977).

Etant donné que le 1-triacontanol, alcool gras d'une longueur de chaîne en C30, favorise la croissance et le rendement chez différentes cultures (Ries et coll., 1978 ; Qian et coll., 1984), cette étude a été entreprise afin de déterminer l'effet du 1-triacontanol et de sa combinaison synergique sur la croissance et le rendement en feuilles du mûrier et son effet sur les larves de *Bombyx mori* au cours de l'élevage.

MATERIELS ET METHODES

Des parcelles de mûriers d'environ 5 ans irriguées plantés en sol noir à proximité de Hubli City ont été sélectionnées pour cette étude. La surface de chaque parcelle est de 10 033 m². Seulement cinq pousses par plant ont été retenues après la récolte des feuilles. Le 1-triacontanol a été fourni par BDK

Agro-Chemicals Hubli (Inde) ; la comparaison avec du 1-triacontanol authentique (Sigma, USA) à l'aide de chromatographie gaz-liquide, infrarouge et résonnance magnétique nucléaire a montré qu'il était pur à 95 %. Différentes concentrations de 1-triacontanol et de "Fasal", produit à base de 1-triacontanol, ont été vaporisées sur les feuilles. Le premier traitement foliaire a été fait 15 jours après la récolte des feuilles, le deuxième et le troisième traitement ont ensuite été fait à intervalles de dix jours. Les observations portent sur la croissance de la pousse, le nombre de feuilles sur chaque pousse et la longueur et la largeur maximales de la feuille. Les résultats obtenus sont comparés à ceux de la parcelle témoin traitée à l'eau distillée. La température et l'humidité atmosphériques ont été relevées. Les feuilles des parcelles témoins et expérimentales ont été utilisées séparément pour l'élevage de la souche NB4D2 de *Bombyx mori*. On a observé le nourrissage des larves et relevé le taux de mortalité ; le poids des cocons a été mesuré individuellement.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'utilisation de 1-triacontanol est plus efficace lorsque les plants ont 2 à 3 feuilles vraies (Ries et coll., 1978). Le premier traitement par vaporisation foliaire avec du 1-triacontanol à différentes concentrations et du Fasal a donc été fait dans des mûraies de la variété Kanva-2 de *Morus alba* 15 jours après la récolte des feuilles. La température et l'humidité relative atmosphériques variaient respectivement de 17,6 à 32,2 °C ($\bar{X}$ 24,38 °C) et de 53 à 110 % ($\bar{X}$ 79,05 %). On observe une augmentation significative de la longueur des pousses de mûrier, du nombre total de feuilles et du poids des feuilles après traitement au 1-triacontanol à 0,1, 1,0 et 5,0 mg/l et au Fasal, mais la concentration de 10 mg/l n'a aucun effet sur le rendement par rapport au témoin (Tableau I et Fig. 1).

Quarante-cinq jours après le traitement comportant trois vaporisations, dans les parcelles de mûriers traitées, la longueur de la pousse est de 135 à 147 cm ($\bar{X}$ 139,65 cm), le nombre total de feuilles par pousse est de 25 à 35 ($\bar{X}$ 31,15), le poids total des feuilles fraîches par pousse est de 79,1 à 111,1 g ($\bar{X}$ 98,53 g) et la longueur et la largeur de la feuille sont respectivement de 21,3 à 25,9 cm ($\bar{X}$ 23,04 cm) et de 18,3 à 21,2 ($\bar{X}$ 20,05 cm) avec le traitement contenant 1 mg/l de 1-triacontanol, alors que, dans les parcelles témoins traitées à l'eau distillée, la longueur de la pousse est de 84 à 125 cm ($\bar{X}$ 114,4 cm), le nombre total de feuilles par pousse est de 13 à 25 ($\bar{X}$ 21,1), le nombre total de feuilles fraîches par pousse est de 27,1 à 52,2 g ($\bar{X}$ 43,93 g) et la feuille mesure entre 19,3 et 21,8 cm ($\bar{X}$ 20,98 cm) de long et entre 14,9 et 18,8 cm ($\bar{X}$ 17,44 cm) de large. Chez les parcelles traitées au Fasal, la longueur de la pousse est de 130 à 151 cm ($\bar{X}$ 138,60 cm), le nombre total de feuilles par pousse est de 21 à 37 ($\bar{X}$ 27,60), le poids de feuilles fraîches par pousse est de 72,4 à 118,7 g ($\bar{X}$ 92,43 g). L'augmentation maximale (124,29 %) du rendement en feuilles par rapport au témoin est obtenue avec le traitement contenant 1 mg/l de 1-triacontanol ; on relève également une augmentation de 110,56 % avec le traitement au Fasal.

Les feuilles de mûriers traitées sur le terrain avec différentes concentrations de 1-triacontanol, du Fasal et de l'eau distillée ont été utilisées pour le nourrissage de 10 pontes saines de vers à soie, chaque type de traitement étant donné séparément. Les larves semblent s'alimenter normalement dans tous les cas. Au quatrième et au cinquième stade, on observe une mortalité des larves de 15,79 % due à la flacherie et à la grasserie. Cependant, nous avons été surpris de constater que la mortalité des larves causée par la flacherie et la grasserie était de 5,44 %, 4,31 %, 4,58 %, 4,63 % et 5,73 % lorsque les larves étaient nourries de feuilles traitées avec du 1-triacontanol à 0,1 mg, 1 mg, 5 mg et 10 mg/l et du Fasal, respectivement (Tableau II). Il se peut que les traces de 1-triacontanol restant dans les feuilles aient permis le développement d'une résistance aux maladies chez les vers à soie.

Deux jours après la fin du filage, les cocons des différents lots ont été prélevés au hasard et pesés. Le poids d'un cocon frais varie de 1,690 à 2,100 g ($\bar{X}$ 1,954 g) dans le lot de larves nourries de feuilles traitées avec 1 mg/l de 1-triacontanol, alors que les larves nourries de feuilles traitées à l'eau distillée donnent des cocons pesant entre 1,310 et 1,730 g ($\bar{X}$ 1,553 g) (Tableau II). Ces résultats montrent que l'on obtient une augmentation maximale de 25,82 % du rendement en cocons après nourrissage avec des feuilles traitées à 1 mg/l de 1-triacontanol et une augmentation de 18,55 % avec le Fasal.

Notre étude révèle donc que la vaporisation des feuilles avec du 1-triacontanol permet d'augmenter la production du mûrier. Son effet sur la résistance aux maladies chez les vers à soie et

sur l'augmentation de la production de soie montre qu'il peut se révéler utile aux sériciculteurs et, à terme, à l'industrie séricicole dans les pays tropicaux.

L'effet du 1-triacontanol sur la physiologie et la biochimie de différentes variétés de *Morus alba* et de *Bombyx mori* ouvre une nouvelle voie de recherches dans le domaine de la sériciculture et peut être étudié sur différentes plantes hôtes des souches sauvages de vers à soie et sur leur production.

EFFECTS OF PARASITISM BY *BLEPHARIPA ZEBINA* WALK. ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *ANTHERAEA* *MYLITTA* DRURY

K.C. MANDAL, R.N. SINGH, B.N. BRAHAMACHARI & S.S. SINHA*

Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834 005, Bihar, India.

* Regional Sericulture Research Station, Ranchi - 834 005, Bihar, India.

Females of Blepharipa zebina (Diptera : Tachinidae) attack larvae of the beneficial tasar silkworm, Antheraea mylitta. The female fly pest attacked early third instar larvae but if they oviposited on later instars they laid more eggs than in earlier instar silkworms. Heavily parasitized silkworms attained a larger mass than did lightly parasitized silkworms. There was a significant decrease in the length of maggot development period, pupal weight and size of Blepharipa zebina in heavily parasitized silkworms. The growth pattern and growth rate of maggots were not affected by the age of silkworm larvae at the time of oviposition. The maggot developmental time was inversely proportional to the number of maggots present in the silkworm larvae.

Keywords : Parasitism, *Blepharipa zebina*, host-parasitoid, egression.

INTRODUCTION

Not much of information is available on *Blepharipa zebina* Walk. (Diptera : Tachinidae) which is a serious endoparasitoid of the tasar silkworm. However, in order to develop suitable control measures, one needs information on the biology of the parasitoid and the host-parasitoid interaction. It was noticed while maintaining a colony of *Blepharipa zebina* that the number of maggots emerging from a single host is highly variable and depends upon several factors including age and physiological state of female flies, the length of exposure of the host to the flies, number of eggs laid and age and physiological state of the host (Singh *et al.*, 1992). The paper presents the effect of the parasitoid on the development of the silkworm larva and the growth of the silkworm in relation to the growth of its parasitoids.

MATERIALS AND METHODS

For laboratory studies a fly population was maintained by collecting maggots of *Blepharipa zebina* from outside. The adults after emergence were kept in mosquito netted cages (45 × 45 × 45 cm) with a long sleeve stapled to one side and with a round opening. The flies were reared on 10 % glucose (Glaxo) solution on sterilized cotton wool (Sriharan *et al.*, 1980). A stock of gravid female flies was maintained throughout the study. During infection the silkworm and gravid fly were held in an enclosed mesh chamber (125 × 50 × 125 cm) for observation. After oviposition the pair was separated and the silkworms were examined with a magnifying glass to determine the number of eggs deposited.

Host larvae between apolysis and ecdysis were used for oviposition, because these could easily be identified. Larvae from the 2nd to early 5th instar were used for this experiment. Parallel studies were made with 40 parasitized worms which were divided into four groups of 10 each. The first group of 10 worms was infected with one egg per worm, the 2nd group with 2 eggs per worm and likewise

3rd and 4th groups with 3 and 4 eggs per worm respectively. Each group was reared separately in block with a divider (barrier) to avoid mixing the worms.

The silkworms were under constant observation during the entire period of rearing which lasted for 35 days and larvae were dissected at regular time intervals after parasitization. Both the eggs and the larvae of *Blepharipa zebina* were assumed to be cylinders in order to calculate their volume as $\pi/4 \times \text{length} \times (\text{width})^2$ (Sato, 1980). The mean volume was based on at least 20 eggs or larvae measured on the same day. The weight of parasitized host larvae and healthy larvae were taken until parasitoid larvae emerged from the host. Immediately after the parasitoid larvae emerged, the host was weighed and dissected and the number of parasitoids remaining in the host was counted.

RESULTS AND DISCUSSION

All the female fly pests attacked third instar larvae but some females avoided later instars (Table I). When the female flies attacked later instar larvae, they did not always lay eggs, but if they oviposited at all, they laid more eggs than in earlier instar worms. When they oviposited in the third and fourth instars, the number of eggs laid was positively correlated with the weight of the worms at the time of oviposition ($r = 0.764$, $n = 10$, $p > 0.05$; $r = 0.483$, $n = 10$, $p > 0.05$) but in the fifth instar the number of eggs was not correlated ($r = -0.490$, $n = 10$, $p < 0.05$). The volume of the tachinid eggs increased 187 fold 48 hours after the host was parasitized and increased 215 fold after 72 hours. The parasitoid larvae grew exponentially with an 850 fold increase in volume 25 days after parasitization. Thereafter their volume remained constant until egression.

Table I. Effect of age of silkworm larvae at oviposition on parasitization by *Blepharipa zebina*.

*Tableau I. Effet de l'âge des larves de vers à soie au moment de l'oviposition sur l'infestation par *Blepharipa zebina*.*

Host instar	Number of hosts	Host weight when parasitized Mean $\pm$ SD	Percentage host parasitoid egressed	No. of eggs laid per host Mean $\pm$ SD	Weight of a parasitoid Mean $\pm$ SD
<i>Age de l'hôte</i>	<i>Nombre d'hôtes</i>	<i>Poids de l'hôte infesté Moyenne $\pm$ ET</i>	<i>Pourcentage d'éclosion des parasites sur l'hôte</i>	<i>Nombre d'oeufs pondus par hôte Moyenne $\pm$ ET</i>	<i>Poids d'un parasite Moyenne $\pm$ ET</i>
2nd instar / 2e âge	20	1.25 $\pm$ 0.65	72.00	1.2 $\pm$ 0.94	
3rd instar / 3e âge	20	2.15 $\pm$ 1.26	88.46	6.6 $\pm$ 1.34	0.005 $\pm$ 0.01
Early 4th instar Début 4e âge	20	7.75 $\pm$ 1.87	72.30	3.4 $\pm$ 0.94	0.025 $\pm$ 0.07
Late 4th instar / Fin 4e âge	20	28.73 $\pm$ 3.45	65.78	2.8 $\pm$ 0.25	0.092 $\pm$ 0.05
Early 5th instar Début 5e âge	20	34.88 $\pm$ 1.67	61.33	11.8 $\pm$ 3.24	0.16 $\pm$ 0.25
Late 5th instar / Fin 5e âge	20	46.70 $\pm$ 0.48	40.35	1.25 $\pm$ 0.85	0.20 $\pm$ 0.15
CD at 5 %		0.79		0.37	0.1

SD : Standard deviation / ET : Ecart type.

The growth of the silkworm larvae parasitized by *B. zebina* was slow (Fig. 1). The maximum increase in the weight and volume of silkworm larvae occurred 35 days after parasitization irrespective of when they were parasitized. Their feeding decreased after that period, whereas unparasitized larvae reached their maximum weight 42 days after hatching and then began to secrete silk (in the 2nd crop). The maximal weight of the parasitized larvae was clearly less than that of unparasitized larvae of the same age (Table II). The weight of parasitized silkworm larvae began to decrease after having reached its maximum presumably because silkworm larvae had stopped feeding. Furthermore, the time to reach the maximal volume of maggot was not affected by silkworm larvae age. The growth of the host larvae seemed to be depressed after they had grown to a size sufficient for parasitoids to complete their development, rather than particular stage of parasitoid development.

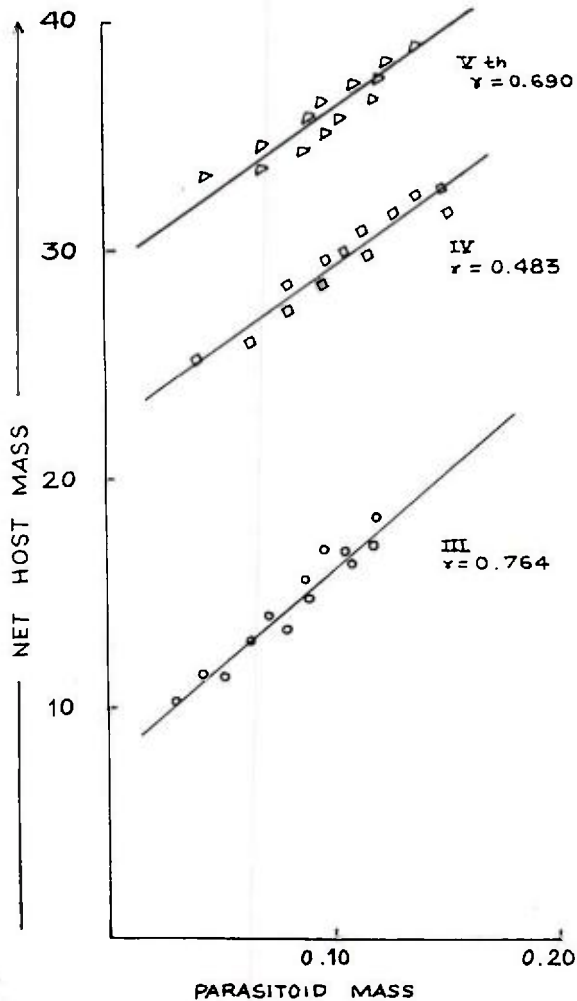


Fig. 1 : Correlation between the weight of host larvae and the total parasitoids per silkworm.

Fig. 1 : Corrélation entre le poids des larves hôtes et le nombre total de parasites par ver à soie.

Table II. Effect on the weight of the silkworm larvae after parasitization by *Blepharipa zebina*.Tableau II. Effet sur le poids des larves de vers à soie après infestation par *Blepharipa zebina*.

Stage	Weight of different instars Mean $\pm$ SD	Weight of infected silkworms Mean $\pm$ SD	Average weight of maggots Mean $\pm$ SD
Age	Poids aux différents âges Moyenne $\pm$ ET	Poids des larves infestées Moyenne $\pm$ ET	Poids moyen des asticots Moyenne $\pm$ ET
I	0.052 $\pm$ 0.01	0.052 $\pm$ 0.01	
II	1.25 $\pm$ 0.25	1.25 $\pm$ 0.22	
III	2.15 $\pm$ 0.75	1.84 $\pm$ 0.65	0.005 $\pm$ 0.01
IV early / Début 4e	7.75 $\pm$ 1.2	6.15 $\pm$ 1.2	0.025 $\pm$ 0.07
IV late / Fin 4e	28.73 $\pm$ 2.42	20.28 $\pm$ 2.35	
V early / Début 5e	34.88 $\pm$ 4.45	25.88 $\pm$ 4.50	0.16 $\pm$ 0.25
V late / Fin 5e	46.70 $\pm$ 2.15	28.73 $\pm$ 3.29	0.18 $\pm$ 0.35
CD at 5 %	0.83	0.81	0.05

SD : Standard deviation / ET : Ecart type.

The mean weight of *Blepharipa zebina* maggots immediately after egression was negatively correlated with the number of eggs laid per worm in the 2nd ($r = -0.415$, $n = 20$, $p < 0.05$) and late 5th instars ($r = 0.857$, $p < 0.05$) but positively correlated in the 3rd instar ($r = 0.690$, $n = 10$, $p > 0.05$) and 4th instar ($r = 0.503$, $n = 10$, $p > 0.05$).

In their review of host regulation by insect parasitoids Vinson and Iwantsch (1980) emphasized that parasitoids markedly inhibit host growth. The present finding is also in agreement with the result obtained by Sato (1980), Ziser and Nettles (1978) and Vinson (1972). The weight of silkworm larvae at oviposition varied from 2.15 to 34.88 g. Silkworms parasitized in early instars showed differences in size, weight and larval period but when parasitization occurred in final stage larvae, the growth was not inhibited. This suggests that the nutritional or physiological state of final instar silkworm larvae with their larger mass is adequate for development of maggots of *B. zebina*, because the growth pattern and maximal size of maggots was not affected by the age of the silkworm at parasitization (Fig. 1). The growth of early parasitized larvae affects the growth of the silkworms and thereby parasitoid maggot development. The time taken for development of maggots is inversely proportional to the number of maggots present in the silkworm larvae. As the density of the maggots per host increases, the availability of host tissue as food for the development of maggots is reduced proportionally. This decreased the recovery of viable maggots which in turn affected pupal weight (Fig. 2). Also silkworm larvae were not able to survive well when the number of maggots per host increased. The smaller the number of maggots in the host, the greater was the percentage of hosts producing adult flies. Heavily parasitized silkworms had maximum mortality in the final instar and there was a significant reduction in the percentage of emergence, pupal weight and fecundity (Fig. 3).

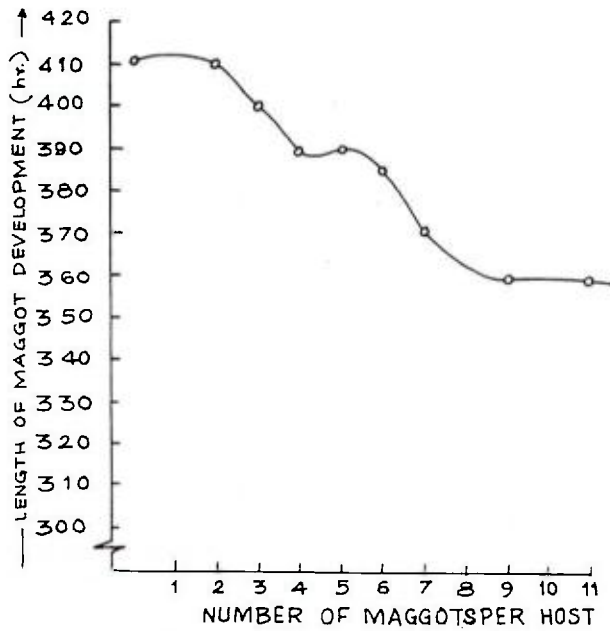


Fig. 2 : The relationship between the number of maggots per host and the maggot development period.

Fig. 2 : Relation entre le nombre d'asticots par hôte et la durée de développement de l'asticot.

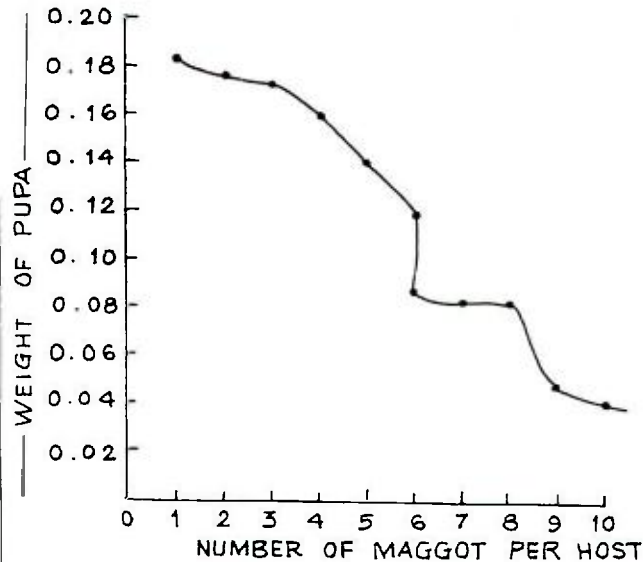


Fig. 3 : The relationship between the number of maggots per host and pupal weight of *B. zebina*.

Fig. 3 : Relation entre le nombre d'asticots par hôte et le poids de la pupa de *B. zebina*.

Jones and Lewis (1971) suggested that successful egression of parasitoids depends on the behaviour of the host before pupation. The host never moves, as if it were paralysed, but after that it moves forward and the maggot comes out and forms a hard puparium. The parasitoids require host growth to ensure their nutritional resource and the fly pests lay few eggs on the silkworm body to ensure the survival of maggots in the body of the silkworm. This probably is a biological adaptation of the fly pest to increase its population.

ACKNOWLEDGEMENTS

One of the author, Dr R.N. Singh, is very much thankful to Dr William C. Nettles Jr., USDA - ARS, for giving guidelines during the course of study and for his thoughtful comments on an early draft of the manuscript.

REFERENCES

- JONES R.L., LEWIS W.J. (1971) Physiology of the host-parasite relationship between *Heliothis zea* and *Microplitis erocipes*. J. Insect Physiol., 17, 921-927.
- SRIHARAN T.P., SAMSON M.V., KRISHNASWAMI S. (1980) Effect of glucose, molasses, honey and yeasts on *Tricholyga bombycis* Beck. Indian J. Seric., 19, 1-3.
- SATO Y. (1980) Experimental studies on parasitization by *Apanteles glomeatus*. V. Relationships between growth rate of parasitoid and host age at the time oviposition. Entomophaga, 25, 123-128.
- SINGH R.N., MANDAL K.C., BHENGRA S.R., KUMAR N., SINHA S.S. (1992) Studies on the biology of *Blepharipa zebina* Walk. (Diptera : Tachinidae), a parasite of *Antheraea mylitta* D.. Indian J. Seric. (in press).
- VINSON S.B. (1972) Effect of parasitoid, *Camponotus sonorensis*, on the growth of its host, *Heliothis virescens*. J. Insect Physiol., 18, 1509-1514.
- VINSON S.B., IWAMTSCH G.F. (1980) Host regulation by insect parasitoids. Q. Rev. Biol., 55, 143-165.
- ZISER S.W., NETTLES W.C. Jr (1978) The larval development of *Eucelatoria* sp. in the host, *Heliothis virescens*. Ann. Entomol. Soc. Ann., 71(3), 383-388.

EFFET DE L'INFESTATION PAR *BLEPHARIPA ZEBINA* WALK. SUR LA CROISSANCE ET LE DEVELOPPEMENT D'*ANTHERAEA MYLITTA* DRURY

K.C. MANDAL, R.N. SINGH, B.N. BRAHAMACHARI & S.S. SINHA*

Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834 005, Bihar, Inde.

* Regional Sericulture Research Station, Ranchi - 834 005, Bihar, Inde.

*Les femelles de **Blepharipa zebina** (Diptera ; Tachinidae) infestent les larves du ver à soie tasar, **Antheraea mylitta**. Ce parasite diptère infeste les larves au début du troisième âge mais les femelles pondent davantage d'oeufs sur les larves des derniers âges que sur les larves des premiers âges. Les vers à soie fortement infestés sont plus gros que ceux qui ne sont que légèrement infestés. On observe une diminution significative de la durée du développement de l'asticot, du poids pupal et de la taille de **Blepharipa zebina** chez les vers à soie fortement infestés. Le cycle et le taux de croissance des asticots ne sont pas affectés par l'âge des larves de vers à soie au moment de la ponte. La durée du développement des asticots est inversement proportionnelle au nombre d'asticots présents dans les larves de vers à soie.*

INTRODUCTION

On dispose de peu d'informations sur *Blepharipa zebina* Walk. (Diptera : Tachinidae), l'un des principaux endoparasites du ver à soie tasar. Cependant, si l'on veut développer des mesures de lutte appropriées, il est nécessaire de connaître la biologie de ce parasitoïde ainsi que l'interaction hôte-parasitoïde. On a observé, sur une population de *Blepharipa zebina* maintenue en laboratoire, que le nombre d'asticots émergeant d'un seul hôte est très variable et dépend de plusieurs facteurs comprenant l'âge et l'état physiologique des mouches femelles, la durée d'exposition de l'hôte aux mouches, le nombre d'oeufs pondus ainsi que l'âge et l'état physiologique de l'hôte (Singh et coll., 1992). Cet article présente l'effet du parasite sur le développement de la larve de ver à soie et sur la croissance du ver à soie en fonction de la croissance de ses parasites.

MATERIELS ET METHODES

Pour l'étude en laboratoire, une population de mouches a été constituée à partir d'asticots de *Blepharipa zebina* prélevés dans leur milieu naturel. Après l'émergence, les adultes sont conservés dans des cages recouvertes de moustiquaires (45 × 45 × 45 cm), prolongées par des manchons d'un côté et comportant une ouverture circulaire. Les mouches sont nourries à l'aide d'une boule de coton imbibée d'une solution de glucose (Glaxo) à 10 % (Sriharan et coll., 1980). Un lot de femelles fécondées est conservé pendant toute la durée de l'étude. Au cours de l'infestation, le ver à soie et la mouche fécondée sont maintenus dans une cage fermée recouverte d'un filet (125 × 50 × 125 cm) pour permettre les observations. Après la ponte, les insectes sont séparés et les vers à soie sont examinés à la loupe pour déterminer le nombre d'oeufs pondus.

Pour la ponte, on a utilisé des larves hôtes entre l'apolyse et l'ecdysis car celles-ci sont facilement identifiables. Pour l'expérience, on a utilisé des larves du deuxième âge jusqu'au début du cinquième âge. Des études parallèles ont été menées sur 40 larves parasitées, divisées en quatre groupes de 10.

Le premier groupe de 10 larves a été infesté avec un oeuf par larve, le deuxième groupe avec 2 oeufs par larves et les 3e et 4e groupes ont été infestés avec 3 et 4 oeufs par larve respectivement. Chaque groupe est élevé séparément dans des blocs isolés.

Les vers à soie sont sous observation constante pendant toute la durée de l'élevage (35 jours) ; les larves sont disséquées à intervalles réguliers après l'infestation. Les oeufs et les larves de *Blepharipa zebina* sont considérés comme des cylindres pour permettre le calcul de leur volume selon la formule suivante : $\pi/4 \times \text{longueur} \times (\text{largeur})^2$ (Sato, 1980). Le volume moyen est déterminé sur la base d'un minimum de 20 oeufs ou larves mesurés le même jour. Le poids des larves hôtes parasitées et saines est mesuré jusqu'à l'émergence des larves parasites sur leur hôte. Tout de suite après l'émergence des larves parasites, l'hôte est pesé et disséqué et le nombre de parasites restant sur l'hôte est compté.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tous les parasites diptères femelles infestent les larves du troisième âge, mais certaines femelles évitent les derniers âges (Tableau I). Les mouches femelles infestant les larves des derniers âges ne pondent pas toujours ; mais, lorsqu'elles pondent, elles produisent un plus grand nombre d'oeufs que sur les larves des premiers âges. Le nombre d'oeufs pondus au troisième et au quatrième âge est corrélé positivement au poids des larves au moment de la ponte ($r = 0,764$, $n = 10$, $p > 0,05$; $r = 0,483$, $n = 10$, $p > 0,05$) mais pas au cinquième âge ($r = 0,490$, $n = 10$, $p < 0,05$). Quarante-huit heures après l'infestation, le volume des oeufs de tachinidés est multiplié par 187 et, après 72 heures, par 215. Les larves du parasite grossissent de façon exponentielle, elles atteignent 250 fois leur volume initial 25 jours après l'infestation. Par la suite, leur volume reste constant jusqu'à l'émergence.

La croissance des larves de vers à soie parasitées par *B. zebina* est lente (Fig. 1). Elles atteignent leur poids et leur volume maximaux 35 jours après l'infestation, quel que soit le moment de l'infestation. Elles s'alimentent moins après cette période, alors que les larves non parasitées atteignent leur poids maximal 42 jours après l'éclosion et commencent alors à sécréter de la soie (à la deuxième récolte). Le poids maximal des larves parasitées est manifestement inférieur à celui des larves non parasitées du même âge (Tableau II). Lorsqu'il arrive à son maximum, le poids des larves de vers à soie parasitées commence à diminuer ; ceci est probablement dû au fait que les larves ont cessé de s'alimenter. De plus, l'âge des vers à soie n'a pas d'incidence sur le temps nécessaire aux asticots pour atteindre leur poids maximal. La croissance des larves hôtes semble ralentir lorsqu'elles ont atteint une taille suffisante pour que les parasites puissent terminer leur développement, plutôt qu'un stade particulier du développement du parasite.

Le poids moyen des asticots de *Blepharipa zebina* à l'éclosion est corrélé négativement avec le nombre d'oeufs pondus par larve au deuxième âge ($r = -0,415$, $n = 20$, $p < 0,05$) et à la fin du cinquième âge ($r = 0,857$, $p < 0,05$) mais il est corrélé positivement au troisième âge ($r = 0,690$, $n = 10$, $p > 0,05$) et au quatrième âge ($r = 0,503$, $n = 10$, $p > 0,05$).

Dans leur revue sur la régulation de l'hôte par les insectes parasites, Vinson et Iwantsch (1980) ont démontré que les parasites inhibaient fortement la croissance de l'hôte. Les résultats présentés ici sont également en accord avec les résultats obtenus par Sato (1980), Ziser et Nettles (1978) et Vinson (1972). Le poids des larves de vers à soie au moment de la ponte varie de 2,15 à 34,88 g. Les vers à soie parasités aux premiers âges présentent des différences de taille, de poids et de durée larvaire mais lorsque l'infestation se produit aux derniers âges larvaires, la croissance n'est pas inhibée. Ceci suggère que l'état nutritionnel ou physiologique des larves des derniers âges, du fait de leur masse plus importante, est propice au développement des asticots de *B. zebina*, le cycle de croissance et la taille maximale des asticots n'étant pas affectés par l'âge du ver à soie au moment de l'infestation (Fig. 1). La croissance des larves infestées aux premiers âges affecte la croissance des vers à soie et, à terme, le développement des asticots du parasite. Le temps nécessaire au développement de l'asticot est inversement proportionnel au nombre d'asticots présents dans les larves de ver à soie. La quantité de tissu hôte utilisé comme aliment par les asticots est inversement proportionnelle à la densité d'asticots par hôte. Il y a, de ce fait, une diminution du nombre d'asticots viables, ce qui affecte le poids de la pupe (Fig. 2). De plus, les larves de vers à soie survivent difficilement lorsque le nombre d'asticots par hôte augmente. Le pourcentage d'hôtes produisant des mouches adultes est d'autant

plus élevé que le nombre d'asticots par hôte est faible. Les vers à soie fortement infestés présentent une mortalité maximale au dernier âge et on observe une diminution significative du pourcentage d'émergence, du poids de la pupe et de la fécondité (Fig. 3).

Jones et Lewis (1971) ont suggéré que l'éclosion des parasites dépendait du comportement de leur hôte avant la pupaison. L'hôte ne bouge pas comme s'il était paralysé puis il se déplace vers l'avant et l'asticot sort et forme un puparium dur. La croissance de l'hôte est nécessaire aux parasites pour leur assurer des ressources nutritionnelles et les parasites diptères pondent peu d'oeufs sur le même ver à soie afin d'optimiser la survie des asticots dans le corps de la larve. Ceci constitue probablement une adaptation biologique du parasite diptère lui permettant d'augmenter sa population.

GENETIC DIVERGENCE IN THE TASAR SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* D.

A.A. SIDDIQUI*, S.N. CHATTERJEE**, A.K. GOEL & A.K. SENGUPTA*

Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri,
Ranchi - 835 303, India.

Genetic divergence, as measured by Mahalanobis D^2 statistic, was studied in 26 genotypes of A. mylitta D. All the genotypes got grouped into 9 clusters. Clusters I, IV and V had four genotypes each. The cluster means of the different characters suggest a wide range of variation for fecundity, larval duration, cocoon weight, shell weight and absolute silk yield. The grouping revealed instability in clusters due to lesser divergence. Further, clusters revealed the absence of a relationship between geographical distribution and genetic divergence. The canonical analysis did not confirm the clusters constellations obtained with D^2 analysis.

Keywords : Genetic divergence, cluster, genotype.

INTRODUCTION

Variability, being the genetic base of the crops, is the basic requirement for genetic improvement of any crop. Therefore, in order to create new reservoirs of genetic variability, the use of crossing between the most genetically diverse parents has become essential as it helps in recombination of genes from diverse sources. Thus the genetic diversity in breeding for high yielding varieties has obvious importance as evidenced by Murty and Arunachalam (1966) and Jain *et al.* (1981). In order to assess the degree of diversity, D^2 statistics based on multivariate analysis developed by Mahalanobis (1928) has been adopted by many workers for different crops including mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. (Jolly *et al.*, 1988). No such information is available on the tasar silkworm, *A. mylitta* D., hence an attempt has been made to study the genetic diversity in 26 genotypes.

MATERIALS AND METHODS

The material for the present investigation comprised 26 genotypes, viz. Daba, Laria (P), Palma, Modal, Sukinda, Raily, Raily (Nangur), Raily (Geedam), Sukly, Bhandara, GE-1, GE-2, GF-3, YMG, RF-38, RF-1, RF-17, RF-41, N-1, N-2, N-3, RF-35, RF-39, RF-40, Laria-8 and R-57. The rearing was conducted in complete randomized block design with five replications during commercial crop 1988 at CTR & TI, Field Laboratory, Nagri. Observations were taken on five characters, namely fecundity, larval duration, cocoon weight, shell weight, and absolute silk yield. The measurements were transformed into standardized uncorrelated variables by pivotal condensation (Rao, 1952). The divergence was obtained as the sum of squares of the differences in the values of the corresponding transformed varieties, based on D^2 values, the 26 genotypes were grouped into clusters using Tocher's method (Rao, 1952).

* Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup, Assam - 781 123, Inde

** Genetics Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde

RESULTS

The analysis of variance revealed significant differences among the 26 genotypes for all the characters studied, indicating the existence of genetic diversity among the genotypes. The significance of Λ (ratio of determinants of error and error + varieties matrices) statistic indicates that the differences between the means in respect of the pooled effect of all the characters between different populations were significant. Hence, a further analysis to estimate D^2 values was done and on the basis of the relative magnitude of D^2 values all the 26 genotypes were grouped into 9 clusters. The intra- and intercluster D^2 values are given in Table I. Table II summarises the clustering pattern of the different genotypes along with their distribution/origin/parentage in various groups. The cluster means for five characters are presented in Table III. It will be seen from this table that there is a wide range of variation in cluster means for fecundity, larval duration, cocoon weight, shell weight and absolute silk yield. While a higher value for fecundity was observed for cluster I (297.65), the minimum value for fecundity (220.53) was observed for cluster VII. Similarly, a higher silk yield was obtained for cluster VIII (167.81) and minimum for cluster VII (60.81). Cluster VII had also the minimum value for cocoon weight and shell weight.

Table I. Average inter- and intra-cluster distances.

Tableau I. Distances moyennes entre les groupes et dans un même groupe.

Cluster Groupe	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
I	0.83	4.01	4.19	1.62	2.54	1.55	7.68	4.91	6.32
II		0.32	2.79	7.02	5.74	3.19	9.09	6.41	0.32
III			0.36	4.08	4.76	12.35	4.06	3.03	3.64
IV				0.86	2.38	2.23	6.37	3.84	4.88
V					1.37	2.34	11.47	4.43	8.40
VI						0.54	7.05	3.10	4.49
VII							1.06	8.08	3.92
VIII								1.44	2.65
IX									1.59

The intercluster distance ranged from 1.55 (I and IV) to 12.5 (III and VI). Cluster I includes four genotypes, indicating overall genetic similarity among them. Out of these four genotypes, two, i.e. GE-1 and GF-3, were derived from Daba and the other two genotypes were derivatives of the crosses Sukinda $\times$ Daba and Laria-P $\times$ Laria-8. Clusters II and III consisted of only two genotypes each. Cluster II contained two genotypes which are derived from the crosses RF-17 $\times$ RF-35 and Sukinda $\times$ Daba. While cluster III consisted of two genotypes, Raily (N) and Raily (G), from Geedam and Nangur area of Madhya Pradesh, clusters IV and V comprised four genotypes, each consisting of one genotype, Daba, and the other seven were of the derivatives of Daba, Sukinda and Laria-P. Cluster VI had two genotypes, one was derived from Raily genotype and the other was derived from

Table II. Distribution/parental origin of 26 genotypes in different clusters obtained through D^2 statistics.*Tableau II. Répartition et origine parentale de 26 génotypes dans différents groupes obtenus à l'aide de la méthode statistique D^2 .*

Cluster no.	Number of genotypes	Genotypes included	Distribution/ parentage
<i>Numéro du groupe</i>	<i>Nombre de génotypes</i>	<i>Génotypes inclus</i>	<i>Répartition parentage</i>
I	4	N-1 GE-1 GF-3 RF-17	RF-17 $\times$ RF-22 (Sukinda, Daba, Laria-P) Daba (Bihar) Daba Sukinda $\times$ Daba
II	2	N-2 N-3	RF-17 $\times$ RF-35 (Sukinda, Daba, Laria-P) Sukinda $\times$ Daba
III	2	Raily-N Raily-G	Nangur (MP) Geedam (MP)
IV	4	Daba Laria-8 RF-41 RF-35	Singhbhum, Bihar Laria (Pitarbar) Sukinda Laria-P $\times$ Daba
V	4	GE-2 YMG RF-39 RF-40	Daba Daba N1 $\times$ N2 (Sukinda, Daba, Laria) Laria-8 $\times$ N3 (Laria-P, Sukinda, Daba)
VI	2	R-57 RF-38	Raily (Jagdalpur) Daba
VII	3	Modal Palma Bhandara	Simlipal (Orissa) Ranchi (Bihar) Bhandara (Maharashtra)
VIII	3	Sukly RF-1 Laria-P	(MP) YMG $\times$ GE-1 Pitarbar (Bihar)
IX	2	Raily Sukinda	(MP) Sukindagarh (Orissa)

Daba genotype. Cluster VII had three genotypes which are geographically distant as one belongs to Simlipal (Orissa) and the others to Ranchi (Bihar) and Bhandara (Maharashtra), respectively.

Cluster VIII consisted of three genotypes, out of which one was derived from the cross Ymg $\times$ GE1 and the other two genotypes belonged to different States, i.e. Madhya Pradesh and Bihar.

Cluster IX had two genotypes, i.e. Raily and Sukinda belonging to different geographical regions of MP and Orissa, viz. Jagdalpur and Sukindagarh, respectively.

Table III. Cluster means for different characters.

Tableau III. Moyennes de différents caractères par groupe.

Cluster	Fecundity (no.)	Larval duration (days)	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Absolute silk yield (g)
Groupe	Fécondité (nombre)	Durée larvaire (jours)	Poids d'un cocon (g)	Poids d'une coque (g)	Rendement absolu en soie (g)
I	297.66	41.35	12.05	1.79	83.82
II	234.60	40.50	12.39	1.69	80.83
III	227.00	34.63	12.02	1.81	98.21
IV	296.75	38.85	12.00	1.92	102.56
V	285.35	40.95	13.27	2.07	122.91
VI	271.20	43.10	12.18	1.86	123.59
VII	220.53	34.87	9.93	1.63	60.81
VIII	280.87	35.40	12.52	1.92	167.81
IX	268.50	34.80	11.02	1.73	144.23
CD at 5 %	61.50	7.56	1.45	0.29	68.30

About 77.44 per cent of the total variance of uncorrelated Y variable was accounted for by the first two canonical roots. The first two canonical roots have accounted for 44.30 per cent and 33.14 per cent of the total variation.

The analysis for estimating the contribution of various characters towards the expression of genetic divergence indicated that fecundity (13.54 %), cocoon weight (19.38 %), shell weight (20.00 %) and absolute silk yield (36.62 %) contributed maximum to the total genetic divergence in this collection. They accounted for about 90 % of the total divergence in the material. It is clear that these are the principle attributes of the silkworm architecture which needs greater attention.

DISCUSSION

The evaluation of the homozygous parents through variability studies involves parental analysis of the yield components, adaptability and genetic divergence by adopting the multivariate analysis

proposed by Mahalanobis, commonly known as D^2 statistics, as it is more effective in the assessment of the genetic divergence. The material used in the present study originated mainly from Bihar (Daba, Laria-P, Palma), Madhya Pradesh (Raily, Raily (N), Raily (G), Sukly), Orissa (Modal, Sukinda) and Maharashtra (Bhandara) States of India.

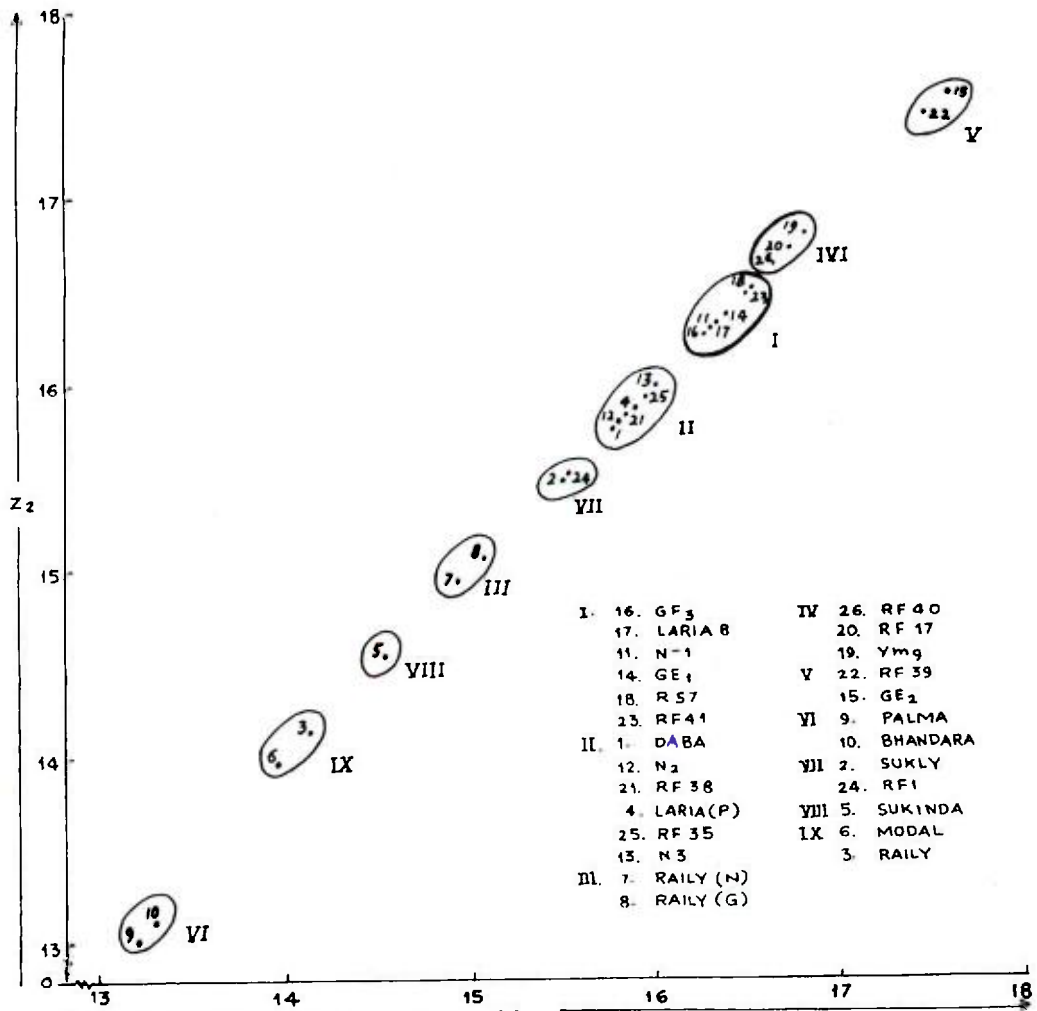


Fig. 1 : Graph of Z_1 - Z_2 .

Fig. 1 : Graphique de Z_1 - Z_2 .

The derived genotypes, viz. N-1, GE-1, RF-17, N-2, N-3, Laria-8, RF-41, RF-35, GE-2, YMG, RF-39, RF-40, R-57, RF-38 and RF-1, were synthesized by using Daba, Sukinda, Laria-P and Raily genotypes. The present analysis of 26 genotypes has indicated the existence of a considerable genetic diversity. The clustering pattern of the genotypes did not follow the geographic distribution of the genotypes as the genotypes collected/synthesized from diverse sources (MP, Bihar, Orissa, and Maharashtra) were grouped into clusters VII, VIII and IX. Further, the genotypes, viz. Raily, Sukly, Raily (N) and Raily (G) (MP); Sukinda and Modal (Orissa); Daba, Laria-P and Palma (Bihar), originating from the same geographical region fell in different clusters. Similar reports of non-correspondence of the genetic divergence and geographic diversity has been reported by Murty and Arunachalam (1966), Upadhyay and Murty (1970), Katiyar and Singh (1979) and Jain *et al.* (1981). On the other hand, Ram and Panwar (1970) suggested the Vavilovian way of thought that the genetic diversity is broadly attributable to geographical diversity. However, this does not hold true for a crop like triticale which is very recent in origin and has not passed through the natural forces of selection (Kamboj and Mani, 1983). On the contrary under the present investigation, the selection under different environmental conditions in the tasar silkworm, *A. mylitta* D., through thousands of years has resulted in a greater divergence than the geographical distance.

It could be conceived from the distribution of the different derived genotypes that the fixed selection criteria and the similarity in parentages may be the cause of the genetic similarity to a large extent (Das and Borthakur, 1973). Thus the six genotypes, RF-1, RF-38, YMG, GE-1, GE-2, and GF-3, derived from the Daba genotype could be grouped into cluster IV, two genotypes, RF-17 and N-3, derived from Sukinda $\times$ Daba could be grouped into either cluster I or II. On the other hand, differential selection criteria, selection pressure and environment may be responsible for the differential grouping of genetically related genotypes (Das and Borthakur, 1973; Maurya and Singh, 1977). This is also evident from the fact that the four genetically related genotypes, viz. N-1, N-2, RF-39 and RF-40, derived from the crosses involving three genotypes, Daba, Sukinda and Laria-P, were distributed in three different clusters, I, II and V.

The choice of the character for the studies is quite important as pointed out by Sokal and Daley (1961) who stated, studying insect behaviour, that the original aim of the investigation could not be achieved since "the choice of experimental variables had been unfortunate". As a matter of fact, for selecting genetically divergent parents only components characters of yield should be taken into account because of their economic importance under crop improvement programme. In the present investigation, fecundity, cocoon weight, shell weight and larval duration are important contributors to genetic diversity as they accounted for 63.38 % of the total divergence in comparison to absolute silk yield which contributed 36.62 % only.

The second criterion for selection of genotypes/varieties as parents for hybridization using D^2 analysis is the intercluster distances. The intercluster distances are obviously genetically more divergent genotypes as included in clusters III, V and VII. Hence it would be logical to incorporate such genotypes in the future breeding programmes.

The cluster constellations obtained by D^2 analysis could not be confirmed by canonical analysis (Fig. 1), possibly due to the fact that the first two canonical roots accounted for only 77.44 % while for getting a clear-cut two-dimensional representation, the canonical roots should account for more than 95 per cent.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Director, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, for providing necessary facilities and to Dr P.K. Srivastav, Plant Breeding and Genetics Laboratory, for critically going through the manuscript.

REFERENCES

DAS G.R., BORTHAKUR D.N. (1973) Genetic divergence in rice. Indian J. Genet., 33, 436-443.

- JAIN R.C., PANDYA B.D., PANDE K. (1981) Genetic divergence in chickpea. *Indian J. Genet.*, 41, 220-225.
- JOLLY M.S., DUTTA R.K., NOAMANI M.K.R., IYENGAR M.N.S., NAGARAJ C.S., BASVARAJ H.K., KSHAMA G., RAMAMOCHAN RAO P. (1989) Studies on genetic divergence in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 29(4), 545-553.
- KAMBOJ R.K., MANI S.C. (1983) Genetic divergence in triticale. *Indian J. Genet.*, 43, 173-179.
- KATIYAR R.P., SINGH S.P. (1979) Genetic divergence in chickpea. *Indian J. Genet.*, 39, 354-358.
- MAHALANOBIS P.C. (1928) A statistical study of Chinese head measurement. *Man in India*, 8, 32-64.
- MAURYA D.M., SINGH D.P. (1977) Genetic divergence in rice. *Indian J. Genet.*, 37, 395-402.
- MURTY B.R., ARUNACHALAM V. (1966) The nature of divergence in relation to breeding system in some crop plants. *Indian J. Genet.*, 26A, 188-198.
- RAO C.R. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research*. Ed. John Wiley and Sons Inc., New York.
- SOKAL R.R., DALEY H.V. (1961) An application of factor analysis to insect behaviour. *Sci. Bull. Univ. Kansas*, 42, 1067-1097.
- UPADHYAY M.K., MURTY B.R. (1970) Genetic divergence in relation to geographical distribution in pearl millet. *Indian J. Genet.*, 30, 704-715.

DIVERGENCE GENETIQUE CHEZ LE VER A SOIE TASAR *ANTHERAEA MYLITTA* D.

A.A. SIDDIQUI*, S.N. CHATTERJEE**, A.K. GOEL & A.K. SENGUPTA

Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri,
Ranchi - 835 303, Inde.

*On a mesuré la divergence génétique de 26 génotypes d'*Antheraea mylitta* D. selon la méthode statistique D^2 de Mahalanobis. Cette analyse permet de répartir tous les génotypes en 9 groupes. Les groupes I, IV et V comportent chacun quatre génotypes. La moyenne par groupe des différents caractères indique une forte amplitude de variation pour la fécondité, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et le rendement absolu en soie. La répartition obtenue fait apparaître une instabilité dans les groupes due à une faible divergence. De plus, les groupements obtenus révèlent qu'il n'y a pas de relation entre la distribution géographique et la divergence génétique. L'analyse canonique ne confirme pas les nuages de points obtenus par analyse D^2 .*

INTRODUCTION

La variabilité est le fondement indispensable pour l'amélioration génétique de toute culture. Aussi, afin de créer de nouveaux réservoirs de variabilité génétique, l'utilisation de croisements entre les parents les plus divers génétiquement est devenue essentielle car elle contribue à la recombinaison de gènes de différentes sources. La diversité génétique dans la sélection de variétés à haut rendement a donc une importance primordiale comme l'ont démontré Murty et Arunachalam (1966) et Jain et coll. (1981). La méthode statistique D^2 basée sur l'analyse multivariée élaborée par Mahalanobis (1928) a été adoptée par de nombreux chercheurs travaillant sur diverses cultures, y compris le ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L. (Jolly et coll., 1988). Il n'existe cependant aucune information sur la diversité génétique chez *Antheraea mylitta*, une étude portant sur 26 génotypes a donc été initiée.

MATERIELS ET METHODES

Le matériel utilisé dans cette étude comprend 26 génotypes : Daba, Laria (P), Palma, Modal, Sukinda, Raily, Raily (Nangur), Raily (Geedam), Sukly, Bhandara, GE-1, GE-2, GF-3, YMG, RF-38, RF-1, RF-17, RF-41, N-1, N-2, N-3, RF-35, RF-39, RF-40, Laria-8 et R-57. L'élevage a été mené selon la méthode des blocs aléatoires au cours de l'élevage commercial 1988 au CTR & TI, Ferme expérimentale, Nagri. Les observations concernent cinq caractères : la fécondité, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et le rendement absolu en soie. Les valeurs mesurées ont été transformées en variables standardisées non corrélées (Rao, 1952). La divergence est obtenue par la somme des carrés des différences des valeurs des variétés transformées correspondantes basées sur les valeurs de D^2 . Les 26 génotypes ont été répartis en neuf groupes selon la méthode de Tocher (Rao, 1952).

* Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup - 781 123, Assam, Inde.

** Genetics Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

RESULTATS

L'analyse de variance fait apparaître des différences significatives entre les 26 génotypes pour tous les caractères étudiés, ce qui indique l'existence d'une diversité génétique entre les génotypes. La signification de A (rapport des déterminants de l'écart et l'écart + les matrices des variétés) indique que les différences entre les moyennes sur le plan de l'effet combiné de tous les caractères entre les différentes populations sont significatives. Une analyse complémentaire a donc été effectuée afin d'évaluer les valeurs de D^2 . On a réparti les 26 génotypes en 9 groupes en fonction de l'amplitude relative des valeurs de D^2 . Les valeurs de D^2 à l'intérieur d'un groupe et entre les groupes sont données dans le tableau I. Le tableau II résume le schéma de regroupement des différents génotypes ainsi que leur distribution, leur origine et leur parenté dans les différents groupes. Les moyennes des groupes pour cinq caractères sont données dans le tableau III. A la lecture de ce tableau, on observera qu'il existe une grande amplitude de variation entre les moyennes des groupes pour la fécondité, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et le rendement absolu en soie. Tandis que le groupe I présente une valeur forte pour la fécondité (297,65), le groupe VII présente la valeur minimale (220,53). Parallèlement, le groupe VIII présente un taux élevé de rendement en soie (167,81) et le groupe VII la valeur minimale (60,81). Le groupe VII donne également la valeur la plus faible pour le poids du cocon et le poids de la coque.

La distance entre les groupes varie de 1,55 (groupes I et IV) à 12,5 (groupes III et VI). Le groupe I comprend 4 génotypes, avec une similitude d'ensemble entre ces génotypes. Deux de ces quatre génotypes, GE-1 et GF-3, sont dérivés de Daba et les deux autres génotypes proviennent de croisements entre Sukinda $\times$ Daba et Laria-P $\times$ Laria-8. Les groupes II et III sont composés chacun de deux génotypes seulement. Le groupe II contient deux génotypes dérivés des croisements RF-19 $\times$ RF-35 et Sukinda $\times$ Daba. Tandis que le groupe III comprend deux génotypes, Raily (N) et Raily (G), des régions de Geedam et de Nagur du Madhya Pradesh, les groupes IV et V comprennent quatre génotypes, chacun consistant en un génotype Daba, et les sept autres dérivés de Daba, Sukinda et Laria-P. Le groupe VI contient deux génotypes, l'un est issu du génotype Raily et l'autre du génotype Daba. Le groupe VII comprend trois génotypes qui sont géographiquement éloignés, l'un provenant de Simlipal (Orissa) et les autres de Ranchi (Bihar) et de Bhandara (Maharashtra).

Les deux premières racines canoniques expliquent environ 77,44 % de la variance totale de la variable Y non corrélée. Ces deux premières racines canoniques correspondent respectivement à 44,30 % et 33,14 % de la variation totale.

L'analyse de l'estimation de la contribution des différents caractères à l'expression de la divergence génétique révèle que la fécondité (13,54 %), le poids du cocon (19,38 %), le poids de la coque (20,00 %) et le rendement absolu en soie (36,62 %) ont une contribution maximale à la divergence génétique totale dans cet échantillon. Ces caractères correspondent à environ 90 % de la divergence totale dans cette expérience. Il est clair qu'ils constituent les principaux attributs de la structure du ver à soie et nécessitent des études complémentaires.

DISCUSSION

L'évaluation des parents homozygotes par la variabilité implique une analyse des composants du rendement chez les parents, de leur adaptabilité et de la divergence génétique en adoptant la méthode de l'analyse multivariée proposée par Mahalanobis, connue sous le nom de méthode statistique D^2 , car elle permet une meilleure évaluation de la divergence génétique. Le matériel utilisé dans cette étude provient principalement des Etats du Bihar (Daba, Laria-P, Palma), du Madhya Pradesh (Raily, Raily (N), Raily (G), Sukly), d'Orissa (Modal, Sukinda) et du Maharashtra (Bhandara).

Les génotypes dérivés, à savoir : N-1, GE-1, RF-17, N-2, N-3, Laria-8, RF-41, RF-35, GE-2, YMG, RF-39, RF-40, RF-38 et RF-1, ont été obtenus en utilisant les génotypes Daba, Sukinda, Laria-P et Raily. L'analyse des 26 génotypes met en évidence l'existence d'une diversité génétique considérable. Le schéma de regroupement des génotypes ne suit pas la distribution géographique car les génotypes prélevés ou synthétisés à partir de diverses sources (MP, Bihar, Orissa et Maharashtra)

sont répartis dans les groupes VII, VIII et IX. De plus, différents génotypes, à savoir : Raily, Sukly, Raily (N) et Raily (G) (MP) ; Sukinda et Modal (Orissa) ; Daba, Laria-P et Palma (Bihar), originaires de la même région géographique sont répartis dans différents groupes. Des observations similaires de non correspondance entre la divergence génétique et la diversité géographique ont été faites par Murty et Arunachalam (1966), Upadhyay et Murty (1970), Katiyar et Singh (1979) et Jain et coll. (1981). Ram et Pandwar (1970) ont suggéré, selon l'hypothèse de Vavilov, que la diversité génétique peut être largement attribuée à la diversité géographique. Cependant, ceci est inexact pour une culture telle que le triticales, d'origine très récente, qui n'a pas encore subi les pressions de la sélection (Kamboj et Mani, 1983). A l'inverse, cette étude montre que la sélection du ver à soie *A. mylitta* D. dans différents environnements pendant des milliers d'années s'est traduite par une divergence plus grande que la distance géographique.

D'après la distribution des différents génotypes dérivés, on peut supposer que les critères de sélection établis et la similitude des parentages soient la cause principale de la similitude génétique (Das et Borthakur, 1973). De ce fait, on a pu placer les six génotypes RF-1, RF-38, YMG, GE-1, GE-2 et GF-3 issus du génotype Daba dans le groupe IV, les deux génotypes issus de Sukinda $\times$ Daba, RF-17 et N-3 soit dans le groupe I, soit dans le groupe II. Par ailleurs, il se peut que les critères différentiels de sélection, la pression de sélection et l'environnement soient responsables de la distribution séparée de génotypes génétiquement voisins (Das et Borthakur, 1973 ; Maurya et Singh, 1977). Ceci est également évident du fait que les quatre groupes génétiquement voisins, N-1, N-2, RF-39 et RF-40, issus de croisements faisant intervenir trois génotypes (Daba, Sukinda et Laria-P), sont répartis dans trois groupes différents (I, II et V).

Le choix du caractère étudié est très important comme l'ont fait remarqué Sokal et Daley (1961) qui ont déclaré, après une étude du comportement des insectes, que leur investigation n'avait pas donné de résultats en raison d'"un choix malheureux des variables expérimentales". En fait, si l'on veut sélectionner des parents génétiquement divergents, il convient de retenir uniquement les composants du rendement étant donné leur importance économique dans les programmes d'amélioration des cultures. Dans notre étude, la fécondité, le poids des cocons, le poids de la coque et la durée larvaire constituent des facteurs de diversité génétique car ils contribuent pour 63,38 % à la divergence génétique totale contre 36,62 % pour le rendement absolu en soie.

Le deuxième critère de sélection des génotypes et/ou variétés pouvant servir de parents dans l'hybridation selon l'analyse D^2 est la distance entre les groupes. Les distances entre les groupes correspondent évidemment aux génotypes génétiquement divergents comme ceux des groupes III, V et VII. Il serait donc logique d'incorporer ces génotypes dans les futurs programmes de sélection.

L'analyse canonique ne permet pas de confirmer les nuages de points obtenus par analyse D^2 (Fig. 1), probablement en raison du fait que les deux premières racines canoniques ne constituent que 77,44 %, alors que pour avoir une représentation bidimensionnelle nette, il faudrait que les racines canoniques correspondent à plus de 95 %.

EFFECT OF RINGING AND AUXINS ON THE VEGETATIVE PROPAGATION OF FOLIATED CUTTINGS OF SOM (*MACHILUS BOMBYCINA* KING) (LAURALES : LAURACEAE)

G.S. YADAV* & B.C. GOSWAMI

Department of Botany, Gauhati University, Guwahati - 781 014, Assam, India.

An attempt has been made to study the effect of ringing on foliated cuttings of Som (Machilus bombycina King) in combination with auxins at different concentrations. Ringing shows a substantial effect on the increase in the rooting percentage, root vigour and post-transplantation survival percentage of foliated cuttings of Som. The effects are further enhanced when growth regulators are used. NAA 100 ppm and 50 ppm recorded better for all the parameters studied. The use of 100 ppm IAA has an insignificant effect on rooting but shows a significant effect on cent per cent callusing of the cuttings.

Keywords : Combined effect, ringing and auxins, *Machilus bombycina* King.

INTRODUCTION

Machilus bombycina King (Laurales : Lauraceae) is one of the primary host plants of the muga silkworm, *Antheraea assama* Westwood (Hooker, 1885 ; Chaudhury, 1981 ; Yadav *et al.*, 1985) and Kotkari or Deomuga (*Atacus atalas* L., *Atacus edwarsi* White, Lepidoptera : Saturniidae) (Jolly *et al.*, 1979 ; Chaudhury, 1981 ; Isa and Thangavelu, 1988).

The stem cuttings of Som (*Machilus bombycina* King), however, do not root well under normal condition (Chandrashekhar and Thangavelu, 1988). Rooting ability increases in the stem cuttings of Som (Chaudhury and Sharma, 1965 ; Bharali *et al.*, 1972), Soalu (Yadav and Goswami, 1990) and mulberry plants (Mukherjee and Sikdar, 1974 ; Chakraborti and Mukherjee, 1980) if treated with auxins and plant growth nutrients.

Ringing of shoots treated with auxins stimulates rooting in difficult to root varieties of mulberry (Mukherjee and Sikdar, 1974 ; Chakraborti and Mukherjee, 1980 ; Shikata *et al.*, 1983). From the available literature, it is evident that the effect of ringing and auxins on the vegetative propagation of foliated cuttings of Som (*M. bombycina*) has never been characterised before. The present study was therefore undertaken to study the effect of ringing and auxins on the rooting behaviour and root vigour of Som.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was initiated during September-October 1988 at Central Muga Research and Training Institute, Campus Jorhat, Assam. Foliated twigs, 8-9 months old, 23 cm in length, 0.7 to 0.8 cm in diameter, ringed at Govt. Muga Multiplication Centre, Hollangapara, Jorhat, Assam

* Present address : Central Muga Research and Training Institute, Post Box No. 96, Jorhat - 785 001, India.

(26°7' N latitude, 94°2' E longitude, 72 m AMSL), along with a similar set of unringed cuttings as control from the unringed twigs were considered for this experiment. The growth hormones applied in this experiment included IAA (indoleacetic acid), IBA (indolebutyric acid) and NAA (1-naphthaleneacetic acid) (products of Loba-cheme Indoaustral Co., PB no. 6136, Bombay 400 005, India) in concentrations of 50 ppm and 100 ppm each for 24 h with two sets of unringed and ringed cuttings treated with distilled water for 24 h served as controls.

Earthen pots filled with sand as rooting medium were used for this study. One hundred cuttings in a set of 20 in each replicate, so that each treatment consisted of five replications, were considered and inserted in the rooting media as per their respective treatments and were kept under intermittent mist (21.35 ± 3.38 °C to 24.69 ± 2.78 °C, relative humidity 93 ± 2 p.c.) in the shade to avoid withering of leaves from direct sunlight. The data on the rooting behaviour, root vigour and post-transplanting survival were recorded after 60 days of planting the cuttings. Rooted cuttings were considered for the post-transplantation survival following the double polythene method as described by Yadav and Goswami (1989). The data were analysed by analysis of variance following the randomised complete block design as described by Gomez and Gomez (1984) for each single factor to show the level of significance between the treatments.

RESULTS AND DISCUSSION

The observations on the rooting behaviour, root vigour and survival percentage are presented in Table I.

I. Rooting behaviour

(A) Cuttings rooted :

It is evident from Table I that ringed cuttings treated with NAA significantly increased the percentage of rooted cuttings over all other treatments with maximum rooting percentage in ringed cuttings treated with NAA 100 ppm followed by ringed cuttings treated with NAA 50 ppm. It showed a distinct effect of acceleration in rooting with increasing concentrations of IBA and NAA.

(B) Cuttings callused :

The percentage of cuttings callused ranged between 7 and 100 per cent in the different treatments. Ringed cuttings treated with IAA 100 ppm failed to root and recorded cent per cent callusing. However, IAA 50 ppm could induce rooting to the extent of 39 ± 4.0 per cent in ringed cuttings. Thus, IAA promoted rooting in low concentration whereas a higher concentration of IAA inhibits the rooting in ringed cuttings with cent per cent callusing. This might be due to the accumulation of a higher concentration of endogenous natural auxin in basipetal direction at the base of the ringed cuttings where further exogenous application of IAA at a higher dose may lead to increase in the auxin level to a lethal dose causing the inhibition. The findings of Chaudhury and Sharma (1965) that IAA at the lower concentration of 30 ppm appeared to be best for rooting in stem cuttings of *Som* shows close resemblance with the present findings.

(C) Cuttings died :

Unringed cuttings treated with water recorded a significantly higher mortality as against ringed cuttings treated with water and IBA 100 ppm. Thus, the ringing has a substantial effect to hasten callusing and root initiation in *Som*. This is also in close agreement with the findings of Mukherjee and Sikdar (1974) who reported that ringing promotes rooting in mulberry plants in difficult to root varieties. This might be due to increase in the endogenous level of IAA.

Table I. Effect of ringing and auxins on the rooting behaviour, root vigour and post-transplantation survival in the vegetative propagation of Som (*Machilus bombycina* K.).

Tableau I. Effet du découronnement et des auxines sur le comportement du racinement, la vigueur des racines et la survie post-bouturage pour la propagation végétative de Som (*Machilus bombycina* K.).

Sl no.	Cutting treatments	Rooting behaviour			Root vigour			Survival (%)
		Cuttings rooted (%)	Cuttings callused (%)	Cuttings died (%)	Mean no. of primary roots (number)	Mean no. of secondary roots (number)	Mean length of the roots (cm)	
N° de série	Traitement des boutures	Comportement du racinement			Vigueur des racines			Survie (%)
		Boutures racinées (%)	Boutures avec cal (%)	Boutures mortes (%)	Nombre moyen de racines primaires	Nombre moyen de racines secondaires	Longueur moyenne des racines (cm)	
1	1	16.0 ± 1.87	66.0 ± 2.44	18.0 ± 2.54	3.56 ± 0.76	0.00 ± 0.00	3.02 ± 0.26	61.66 ± 16.58
2	2	27.0 ± 1.22	69.0 ± 2.91	4.0 ± 2.45	2.42 ± 0.27	0.00 ± 0.00	4.96 ± 1.12	81.33 ± 0.86
3	3	39.0 ± 4.00	61.0 ± 4.00	0.00 ± 0.00	2.26 ± 0.20	3.78 ± 0.00	7.48 ± 0.45	84.60 ± 5.53
4	4	0.0 ± 0.00	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	00.00 ± 0.00
5	5	59.0 ± 1.87	41.0 ± 1.87	0.00 ± 0.00	7.24 ± 0.28	3.42 ± 1.05	7.70 ± 0.51	94.27 ± 2.08
6	6	61.00 ± 3.31	38.0 ± 3.74	1.0 ± 0.00	14.4 ± 0.75	2.65 ± 0.96	8.26 ± 0.60	95.03 ± 2.08
7	7	88.0 ± 3.74	12.0 ± 3.74	0.0 ± 0.00	15.7 ± 0.51	3.88 ± 1.85	6.86 ± 0.45	95.41 ± 2.14
8	8	93.0 ± 3.00	7.00 ± 3.00	0.0 ± 0.00	12.9 ± 0.84	14.36 ± 4.02	8.76 ± 1.76	94.59 ± 1.87
CD at 5 %level		7.62	8.46	3.88	1.96	4.68	2.23	17.37

Mean ± standard mean error / Moyenne ± écart type moyen.

1 : Unringed cuttings (water) / Boutures non découronnées (eau).

2 : Ringed cuttings (water) / Boutures découronnées (eau).

3 : Ringed cuttings IAA 50 ppm / Boutures découronnées IAA 50 ppm.

4 : Ringed cuttings IAA 100 ppm / Boutures découronnées IAA 100 ppm.

5 : Ringed cuttings IBA 50 ppm / Boutures découronnées IBA 50 ppm.

6 : Ringed cuttings IBA 100 ppm / Boutures découronnées IBA 100 ppm.

7 : Ringed cuttings NAA 50 ppm / Boutures découronnées NAA 50 ppm.

8 : Ringed cuttings NAA 100 ppm / Boutures découronnées NAA 100 ppm.

II. Root vigour

(A) Mean number of primary roots :

The mean number of primary roots per rooted foliated cuttings recorded significantly higher in ringed cuttings treated with NAA 50 ppm followed by ringed cuttings treated with IBA 100 ppm (Fig. 1).

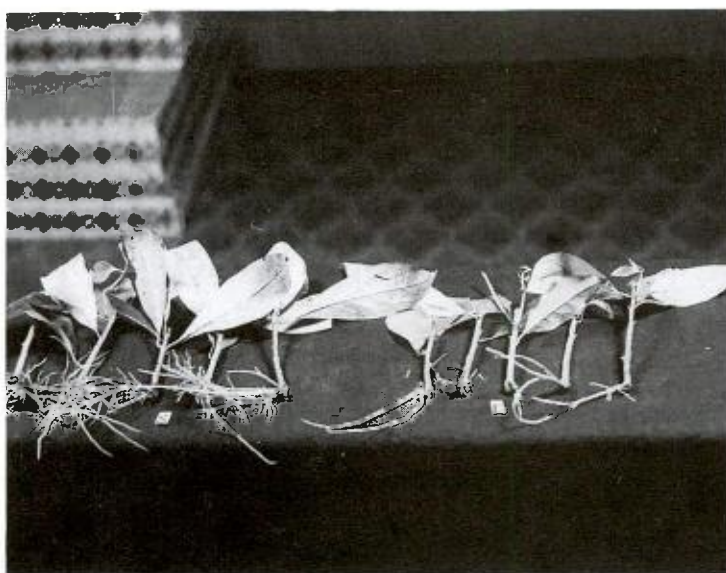


Fig. 1 : Showing auxin-treated ringed cuttings (left) and water-treated unringed cuttings (right) of *Machilus bombycina* King.

Fig. 1 : Boutures de Machilus bombycina King découronnées traitées à l'auxine (gauche) et non découronnées traitées à l'eau (droite).

(B) Mean number of secondary roots :

Ringed cuttings treated with NAA 100 ppm recorded a significant increase in the number of secondary roots/rooted foliated cuttings over all other treatments. Unringed and ringed cuttings treated with water failed to produce any secondary root indicate that auxins promoted initiation of secondary roots and had the highest number in the ringed cuttings treated with NAA 100 ppm.

(C) Mean length of the roots :

Ringling of foliated cuttings of Som before preparation and planting of cuttings was observed to have a substantial effect as ringed cuttings without any pre-treatment with auxins increased the mean

length of the roots of the cuttings over unringed cuttings. Ringed cuttings treated with NAA 100 ppm produced the longest roots (8.76 ± 1.76 cm) followed by IBA 100 ppm (8.26 ± 0.60 cm).

III. Survival percentage

An insignificant difference in the survival percentage was observed between ringed cuttings treated with water, IAA 50 ppm, IBA 50 ppm, IBA 100 ppm, NAA 50 ppm and NAA 100 ppm. Water-treated unringed cuttings recorded the lowest survival (61.61 ± 16.58 %) followed by water-treated ringed cuttings (81.33 ± 0.86 %).

Previous attempts towards initiation of rooting in Som was mainly through the use of growth regulators on stem cuttings. Ringing has been resorted to for the first time in Som to study the effect of either in single or along with the auxins. The ringed cuttings were found always superior over unringed cuttings in respect of rooting, callusing, mean length of the roots and post-transplantation survival percentage. These results showed similar affinity closure to the findings of Mukherjee and Sikdar (1974) in mulberry plants.

Ringed cuttings treated with IAA 50 ppm could induce rooting to the extent of 39.0 ± 4.0 per cent whereas ringed cuttings treated with IAA 100 ppm stimulated cent per cent callusing and had an inhibitory action on rooting without any lethal effect to the cuttings. This might be due to excessive accumulation of natural auxins at the base of the ringed cuttings which inhibit the rooting. Chaudhury and Sharma (1965) also observed the distinct effect of hormonal acceleration in promoting root growth amongst which IAA 30 ppm was observed to be most effective in propagation by stem cuttings in Som (*M. bombycina*).

In the present study, IBA showed a stimulating effect on the rooting percentage, mean number of primary roots, mean length of the roots and survival percentage in ringed and foliated cuttings of Som with its increasing concentration whereas Mukherjee and Sikdar (1974) observed a declining trend in ringed cuttings of mulberry in its survival percentage, mean length of the roots, number of primary roots and total dry weight of the plant with increasing concentration of IBA beyond 50 ppm. In ringed cuttings of Som, NAA 100 ppm was most effective for rooting percentage, mean number of secondary roots and mean length of the roots. Mortality in the ringed cuttings treated with water was 4.0 ± 2.45 per cent and 18.0 ± 2.54 per cent in unringed cuttings treated with water.

The work so far done to propagate Som by stem cuttings (Chaudhury, 1965; Bharali *et al.*, 1972; Chandrashekhar and Thangavelu, 1986) recorded 16 to 45 per cent success and is not sufficient to recommend for propagation on a commercial scale by vegetative means. Seeing the results of this study, the ringed foliated cuttings from juvenile twigs treated with NAA or IBA can be recommended for propagation under intermittent mist condition on a commercial scale to obtain plants of a desired genetic constitution within a short period and for multiplication of different morphotypes of Som which do not reproduce well by other means or cannot be propagated due to limited viability period of the seeds under natural conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Shri T.K. Dewan, IAS, Director (North-East) Central Silk Board, Govt. of India, Guwahati, Assam, for his encouragements to the authors.

REFERENCES

- BHARALI N., BORAP., NATH B.C. (1972) Effect of higher concentration of plant growth hormones on *Machilus bombycina* stem cuttings. Indian J. Seric., 11(1), 6-10.
 CHAKRABORTI S., MUKHERJEE S.K. (1980) Effect of ringing, growth promoters and sucrose either singly or in combination on the rooting of mulberry variety. Proc. Sericulture Symposium and Seminar, Tamil Nadu Agri. Univ., 73-77.
 CHANDRASHEKHAR M., THANGAVELU K. (1986) Muga silkworm food plants and their propagation method. Lectures on Sericulture. Suramya Publishers, Bangalore, 131-134.

- CHAUDHURY S.N., SHARMA L.N. (1965) Studies on propagation of Som (*Machilus bombycina* King) by stem cuttings with aid of growth regulators. *Indian Agriculturists*, 9(1), 82-83.
- CHAUDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, 24-31.
- GOMEZ K.A., GOMEZ A.A. (1984) Statistical Procedure for Agricultural Research (2nd Edition). John Wiley and Sons, 7-30.
- HOOKE J.D. (1885) Flora of British India. L. Reeve & Co., Ltd, The East House Brook, Ashford, Kent, 139-861.
- ISA MD., THANGAVELU K. (1988) North-west sub-Himalayan belt - A potential zone for muga culture. *Indian Silk*, 27(2), 7-9.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979) FAO Agricultural Services Bulletin, 29, 1-165.
- MUKHERJEE S.K., SIKDAR A.K. (1974) Effect of ringing and application of growth regulators and vitamins on the vegetative propagation of mulberry cuttings. *Indian J. Seric.*, 13, 1-10.
- SHIKATA M., HOSHINO M., SHINJO T. (1983) The study of mulberry multiplication using the remnant branches after the layering. *J. Seric. Sci. Japan*, 52(2), 177-178.
- YADAV G.S., ISA MD., THANGAVELU K. (1985) Studies on taxonomy and floral biology of Som (*Machilus bombycina* King) (Laurales : Lauraceae). *Sericologia*, 25(1), 63-70.
- YADAV G.S., GOSWAMI B.C. (1989) Effect of Surootex on rooting behaviour in vegetative propagation of Som (*Machilus bombycina* King) (Laurales : Lauraceae) by apical tips. *Environment & Ecology*, 7(4), 990-991.
- YADAV G.S., GOSWAMI B.C. (1990) Effect of concentration of mixtalol (Paras) in vegetative propagation of Soalu (*Litsea monopetala* (Roxb) Pers.) by apical tip cuttings. *Banko Janakari*, 2(3), 269-271.

EFFET DU DECOURONNEMENT ET DES AUXINES SUR LA REPRODUCTION VEGETATIVE DE BOUTURES FOLIACEES DE SOM (*MACHILUS BOMBYCINA* KING) (LAURALES : LAURACEAE)

G.S. YADAV* & B.C. GOSWAMI

Department of Botany, Gauhati University, Guwahati - 781 014, Assam, Inde.

Une étude a été réalisée sur l'effet du découronnement combiné avec l'utilisation des auxines à différentes concentrations sur les boutures foliacées de Som (Machilus bombycina King). Le découronnement entraîne une augmentation très nette du pourcentage de racinement, de la vigueur des racines et du pourcentage de survie après transplantation des boutures foliacées de Som. Ces effets s'accroissent lorsque l'on utilise des régulateurs de croissance. L'acide 1-naphthalène-acétique (ANA) à 100 ppm et 50 ppm donne les meilleurs résultats pour tous les paramètres étudiés. L'utilisation de l'acide indole-acétique (AIA) à 100 ppm n'affecte pas le racinement de façon significative mais a un effet significatif sur la formation de cal à 100 %.

INTRODUCTION

Machilus bombycina King (Laurales : Lauraceae) est l'une des principales plantes hôtes du ver à soie muga, *Antheraea assama* Westwood (Hooker, 1885; Chaudhury, 1981; Yadav et coll., 1985) et des séricigènes Kotkari ou Deomuga (*Atacus atalas* L., *Atacus edwardsi* White, Lepidoptera : Saturniidae) (Jolly et coll., 1979; Chaudhury, 1981; Isa et Thangavelu, 1988).

Les boutures de tige de Som (*Machilus bombycina* King) racinent mal dans des conditions normales (Chandrashekhar et Thangavelu, 1988). La capacité de racinement augmente chez les boutures de Som (Chaudhury et Sharma, 1965; Bharali et coll., 1972), de Soalu (Yadav et Goswami, 1990) et de mûriers (Mukherjee et Sikdar, 1974; Chakraborti et Mukherjee, 1980) lorsqu'elles sont traitées avec des auxines ou des éléments nutritifs nécessaires à la croissance des plants.

Le découronnement des pousses traitées avec des auxines stimule le racinement chez les variétés de mûrier difficiles à raciner (Mukherjee et Sikdar, 1974; Chakraborti et Mukherjee, 1980; Shikata et coll., 1983). A la lecture de la documentation existante, il apparaît que l'effet du découronnement et des auxines sur la reproduction végétative des boutures foliaires de Som (*M. bombycina*) n'a pas encore été caractérisé. Cette étude a donc été initiée afin d'étudier l'effet du découronnement et des auxines sur le mécanisme et la vigueur du racinement de Som.

MATERIELS ET METHODES

Cette expérience a été réalisée en septembre-octobre 1988 au Central Muga Research and Training Institute, Campus Jorhat, Assam. On a utilisé des tiges foliacées âgées de 8 à 9 mois, de 23 cm de long et 0,7 à 0,8 cm de diamètre, découronnées au Govt. Muga Multiplication Centre,

* Adresse actuelle : Central Muga Research and Training Institute, Post Box No. 96, Jorhat - 785 001, Inde.

Hollangapara, Jorhat, Assam (26°7' N latitude, 94°2' E longitude ; altitude : 72 m), un lot identique de tiges non découronnées a été utilisé comme témoin. Les hormones de croissance appliquées dans cette expérience comprennent : l'AIA (acide indole-acétique), l'AIB (acide indole-butyrique) et l'ANA (acide 1-naphthalène-acétique) (produits par Loba-cheme Indoaustral Co., PB no. 6136, Bombay 400 005, Inde) à des concentrations de 50 ppm et 100 ppm pendant 24 heures utilisés sur deux lots de boutures découronnées et non découronnées traitées à l'eau distillée pendant 24 heures et servant de témoins.

Des pots de terre contenant du sable comme milieu de racinement ont été utilisés pour cette étude. Cent boutures ont été réparties en lots de 20 boutures par réplicat, de façon à ce que chaque traitement comprenne 5 réplicats. Elles sont intégrées dans les milieux de racinement en fonction de leurs traitements respectifs et conservées sous brumisation intermittente (de 21.35 ± 3.38 °C à 24.69 ± 2.78 °C, humidité relative de 93 ± 2 %) à l'ombre afin d'éviter le flétrissement des feuilles sous l'effet de la lumière directe du soleil. Les données concernant le comportement du racinement, la vigueur du racinement et la survie après transplantation ont été relevées 60 jours après la plantation des boutures. Pour la survie après transplantation, on a pris en compte les boutures racinées suivant la méthode du double polyéthylène décrite par Yadav et Goswami (1989). Les données ont été soumises à l'analyse de variance suivant la méthode des blocs aléatoires décrite par Gomez et Gomez (1984) pour chacun des facteurs afin de mettre en évidence le seuil de signification entre les traitements.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les observations portant sur le comportement et la vigueur du racinement et le pourcentage de survie sont présentées dans le tableau I.

I. Comportement du racinement

(A) Racinement des boutures :

Le tableau I montre clairement que le pourcentage de racinement des boutures découronnées et traitées à l'ANA est significativement supérieur à tous les autres traitements, avec un pourcentage de racinement maximal pour les boutures découronnées traitées à l'ANA à 100 ppm, suivi des boutures découronnées traitées à l'ANA à 50 ppm. Les résultats montrent également une accélération distincte du racinement avec des concentrations croissantes d'AIB et d'ANA.

(B) Formation de cal sur les boutures :

Le pourcentage de formation de cal varie de 7 à 100 suivant les différents traitements. Les boutures découronnées traitées à l'AIA à 100 ppm ne racinent pas et donnent une formation de cal de 100 %. Cependant, l'AIA à 50 ppm a permis d'obtenir un pourcentage de racinement de $39 \pm 4,0$ % chez les boutures découronnées. Ainsi, l'AIA utilisé en faibles concentrations stimule le racinement tandis que les fortes concentrations inhibent le racinement chez les boutures découronnées en donnant une formation de cal de 100 %. Ceci pourrait être dû à l'accumulation d'une forte dose d'auxine naturelle endogène en direction basipète à la base des boutures découronnées où des applications exogènes supplémentaires de doses plus élevées d'AIA peuvent provoquer une augmentation du niveau d'auxine jusqu'à accumulation d'une dose létale induisant l'inhibition. Les résultats de Chaudhury et Sharma (1965), qui ont observé que la concentration d'AIA la plus favorable au racinement chez les boutures de tiges de Som semble être de 30 ppm, présentent des similitudes avec les résultats décrits ici.

(C) Mortalité des boutures :

Les boutures non découronnées traitées à l'eau présentent une mortalité élevée et significative par rapport aux boutures découronnées et traitées à l'eau et à l'AIB à 100 ppm. Le découronnement accélère donc manifestement la formation du cal et l'initiation des racines chez Som. Ceci corrobore également les résultats de Mukherjee et Sikdar (1974) qui ont observé que le découronnement favorise

le racinement des plants de mûrier chez les variétés à racinement médiocre. Ceci pourrait être dû à l'augmentation du niveau endogène d'AIA.

II. Vigueur des racines

(A) Nombre moyen de racines primaires :

Le nombre moyen de racines primaires par bouture foliacée est maximal chez les boutures découronnées traitées à l'ANA à 50 ppm, puis chez les boutures découronnées traitées à l'AIB à 100 ppm (Fig. 1).

(B) Nombre moyen de racines secondaires :

Les boutures découronnées traitées à l'ANA à 100 ppm font apparaître une augmentation significative du nombre de racines secondaire et/ou de boutures foliacées racinées par rapport à tous les autres traitements. Les boutures découronnées et non découronnées traitées à l'eau ne produisent pas de racine secondaire, ce qui indique que les auxines favorisent l'initiation de racines secondaires, avec un nombre maximal chez les boutures découronnées traitées à l'ANA à 100 ppm.

(C) Longueur moyenne des racines :

Le découronnement des boutures foliacées de Som avant préparation et plantation des boutures a également un effet prononcé car les boutures découronnées n'ayant subi aucun pré-traitement à l'auxine présentent une longueur de racines plus élevée que les boutures non découronnées. Les racines les plus longues sont produites par les boutures découronnées traitées à l'ANA à 100 ppm (8.76 ± 1.76 cm) suivies des boutures découronnées traitées à l'AIB à 100 ppm (8.26 ± 0.60 cm).

III. Taux de survie

On observe une différence non significative du pourcentage de survie entre les boutures découronnées traitées à l'eau, à l'AIA à 50 ppm, à l'AIB à 50 ppm, à l'AIB à 100 ppm, à l'ANA à 50 ppm et à l'ANA à 100 ppm. Les boutures non découronnées traitées à l'eau enregistrent la survie la plus faible (61.61 ± 16.58 %) suivies des boutures découronnées traitées à l'eau (81.33 ± 0.86 %).

Les tentatives antérieures d'induction du racinement chez Som ont été faites principalement par l'utilisation de régulateurs de croissance sur les boutures de tige. On a employé le découronnement pour la première fois chez Som afin d'en étudier l'effet soit seul soit combiné avec les auxines. Les boutures découronnées donnent toujours des résultats supérieurs à ceux obtenus avec les boutures non découronnées pour ce qui est du racinement, de la formation de cal, de la longueur moyenne des racines et du pourcentage de survie après la transplantation. Ces résultats sont tout à fait semblables aux observations de Mukherjee et Sikdar (1974) sur les plants de mûrier.

L'application d'AIA à 50 ppm sur les boutures découronnées permet d'induire un racinement de 39.0 ± 4.0 % alors que l'application d'AIA à 100 ppm sur les boutures découronnées donne 100 % de cal et a un effet inhibitoire sur le racinement sans effet léthal sur les boutures. Ceci pourrait être dû à l'accumulation excessive d'auxines naturelles à la base des boutures découronnées inhibant le racinement. Choudhury et Sharma (1965) ont également observé que l'accélération hormonale favorisait de manière distincte la croissance des racines ; parmi ces hormones l'AIA à 30 ppm semblait être la plus efficace dans la reproduction par bouturage chez Som (*M. bombycina*).

Dans cette étude, l'AIB en concentrations croissantes présente un effet stimulant sur le pourcentage de racinement, le nombre moyen de racines primaires, la longueur moyenne des racines et le pourcentage de survie des boutures découronnées et foliacées de Som tandis que Mukherjee et Sikdar (1974) ont observé que le pourcentage de survie, la longueur moyenne des racines, le nombre de racines primaires et le poids sec total des boutures découronnées de mûriers tendaient à diminuer après application de concentrations croissantes d'AIB au-delà de 50 ppm. Chez Som, le traitement des boutures découronnées à l'ANA à 100 ppm est le plus efficace pour ce qui est du pourcentage de racinement, du nombre moyen de racines secondaires et de la longueur moyenne des racines. La

mortalité est de $4,0 \pm 2,45$ chez les boutures découronnées traitées à l'eau et de $18,0 \pm 2,54$ chez les boutures non découronnées traitées à l'eau.

Les études réalisées à ce jour pour reproduire des plants de Som par bouturage des tiges (Chaudhury, 1965, Bharali et coll., 1972 ; Chandrashekhar et Thangavelu, 1986) ont permis d'obtenir entre 16 et 45 % de réussite, ce qui est insuffisant pour recommander la reproduction à l'échelle commerciale par méthode végétative. Au vu des résultats de cette étude, on peut recommander la reproduction des boutures foliacées découronnées de ramilles juvéniles par traitement à l'ANA ou à l'AIB sous brumisation intermittente pour obtenir des plants ayant la constitution génétique souhaitée dans des délais rapides et pour la multiplication de différents morphotypes de Som difficilement multipliables par d'autres méthodes et qui ne peuvent pas être propagés en raison d'une viabilité trop courte des graines dans des conditions naturelles.

STUDIES ON THE FOLIAR CONSTITUENTS OF SOM (*MACHILUS BOMBYCINA* KING) AND SOALU (*LITSAEA POLYANTHA* JUSS)

G.S. YADAV* & B.C. GOSWAMI

Department of Botany, Gauhati University, Guwahati - 781 014, Assam, India.

The studies conducted on foliar constituents of Som (Machilus bombycina) and Soalu (Litsaea polyantha) recorded significantly higher total minerals, crude fat and starch in Som in comparison to Soalu. Similarly, Soalu recorded significantly higher values for total nitrogen and crude protein as against Som. Variations between Som and Soalu for moisture, organic carbon, crude fibre and sugar contents were not significant. Variations between leaf types revealed significant differences for moisture, total minerals, crude fat, crude fibre and total starch whereas differences were insignificant for organic carbon, total nitrogen and crude protein.

Keywords : Foliar constituents, Som, Soalu.

INTRODUCTION

Som (*Machilus bombycina* King) and Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) are two primary food plants of the muga silkworm, *Antheraea assama* Westwood (Bharali, 1969 ; Jolly *et al.*, 1979 ; Chaudhury, 1981 ; Yadav *et al.*, 1985 ; Thangavelu, 1986 ; Chandrashekhar and Thangavelu, 1986 ; Yadav and Goswami, 1989). Muga silk is a monopoly of North-East India from time immemorial and has a prominent and prestigious reputation in the history of cultural heritage of the people of this region. The abiotic factors and food plants greatly influence the growth and development of the muga silkworm, shell weight, silk content and reelability (Chandrashekhar and Thangavelu, 1986). The cocoon and shell weights also vary to a certain extent on these two food plants. The female cocoons of Soalu fed stock lay more eggs and are fairly heavier than those of Som fed stock whereas Som fed stocks are better in silk content (Yadav and Goswami, 1989). The quality of the leaves, depending on moisture, nitrogen, protein, minerals, fat, crude fibre, sugar and starch content, etc., play a significant role in the proper growth and development of silkworms to produce healthier cocoons (Kohli *et al.*, 1969 ; Sinha and Jolly, 1971 ; Agarwal *et al.*, 1980). The foliar constituents in the leaves of different sericigenous flora vary from species to species. Sufficient literature is available on the foliar constituents of tasar silkworm food plants (Kohli *et al.*, 1969 ; Sinha and Jolly, 1971 ; Agarwal *et al.*, 1980) as well as eri silkworm food plants (Pathak, 1988) but no information is available on the foliar constituents of muga silkworm food plants. Thus, the present study deals with the different foliar constituents of two primary food plants of the muga silkworm.

* Present address : Central Muga Research and Training Institute, P.B. 96, Jorhat 785001, Assam, India.

MATERIALS AND METHODS

Samples of tender, medium and mature leaves of Som and Soalu were collected separately from the Central Muga Research and Training Institute of Jorhat (Assam, India) (26° 7' N latitude, 94° 2' E longitude, 72 m AMSL). The biochemical analysis was done at the Biochemistry Laboratory of Assam Agriculture University of Jorhat (Assam, India) during December-February 1989. The constituents, viz. moisture, minerals, crude fat, crude fibre, total sugar and starch, were estimated (AOAC, 1975). Nitrogen was estimated by micro-Kjeldahl method and the nitrogen percentage was multiplied by 6.25 to calculate the crude protein. Organic carbon was estimated by the method described by Motiramani and Wankade (1970). The estimation was done in duplicate and the mean value was recorded for the interpretation of the results. The data were statistically analysed following the analysis of variance for the leaf types as well as for food plants in a randomised complete block design and co-efficient of variation (CV %) was calculated following the method described by Gomez and Gomez (1984).

RESULTS AND DISCUSSION

Moisture :

The tender leaves of Som and Soalu were rich in moisture % which declined gradually with the maturity of the leaves. The results indicated a significant difference (at 1 % point level) between the leaf types and an insignificant difference between the food plants. The experimental error as percentage of the mean (CV %) was calculated 4.08 % as degree of precision to compare the mean value between food plants as well as leaf types (Table I).

Total minerals :

The total minerals were found to be higher in the tender leaves of Som and Soalu. There was a significant reduction in the total minerals % with the maturity of the leaves (significant at 1 % point level). Moreover, the minerals % was significantly higher ($P < 0.01$) in Som in comparison to Soalu.

Total organic carbon :

Total organic carbon % was maximum in the tender leaves of Som and minimum in the tender leaves of Soalu with an insignificant gradual increase and decrease in Som and Soalu, respectively, with the maturity of the leaves. Furthermore, the calculated C/N ratio was at a considerably higher level in Som (14.18) as against Soalu (10.82). Higher C/N ratio plays an important role in the development of the root and shoots from cuttings. Succulent stems with a low C/N ratio fail to root (Hartmann, 1986).

Total nitrogen :

The tender leaves of Som and Soalu were rich in nitrogen %. It declined gradually with increasing maturity of the leaves in both food plants. This finding is exactly similar to the findings of Jawale *et al.* (1981) in mulberry who also reported that younger leaves were rich in nitrogen in comparison to medium and mature leaves. Variation between the leaf types for nitrogen % was not significant. However, Soalu leaves recorded significantly higher in nitrogen % in comparison to Som ($P < 0.05$).

Crude protein :

A comparison between Som and Soalu for crude protein % (nitrogen % $\times$ 6.25) further confirmed that the mean value for crude protein was significantly higher ($P < 0.05$) in Soalu leaves with an insignificant variation between the various leaf types. Pathak (1988) observed considerably higher crude protein in *Ricinus communis* (23.80 %), *Heteropanax fragrans* (20.7 %) and *Manihot utilissima* (19.8 %) as against the protein content recorded in the present study in *Machilus bombycina* (15.75 %) and *Litsaea polyantha* (18.14 %).

Agarwal *et al.* (1980) recorded comparatively lower levels of crude protein in *Lagerstroemia indica* (9.7 %), *Dalbergia sisoo* (15.5 %), *Terminalia paniculata* (8.37 %), *Lagerstroemia speciosa*

Table I. Foliar constituents of Som (*Machilus bombycina* King) and Soalu (*Litsaea polyantha* Juss).Tableau I. Composants foliaires de Som (*Machilus bombycina* King) et de Soalu (*Litsaea polyantha* Juss).

Food plant	Leaf type	Moisture (%)	Total minerals (%)	Total organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	Crude protein (%)	Crude fat (%)	Crude fibres (%)	Total sugar (%)	Total starch (%)
Plante hôte	Type de feuille	Humidité (%)	Minéraux totaux (%)	Carbone organique total (%)	Azote total (%)	Protéines brutes (%)	Graisses brutes (%)	Fibres brutes (%)	Sucres totaux (%)	Amidon total (%)
Som	Tender / <i>Tendre</i>	74.00	6.36	37.50	2.5900	16.1875	5.208	4.11	4.23	10.12
	Medium / <i>Moyenne</i>	65.50	5.70	37.50	2.4864	15.5400	5.702	6.25	5.80	14.05
	Mature / <i>Mature</i>	56.20	5.69	32.25	2.4864	15.5400	5.738	6.31	4.53	15.13
	Mean / <i>Moyenne</i>	65.23	5.91	35.75	2.5209	15.7558	5.5493	5.56	4.85	13.1
Soalu	Tender / <i>Tendre</i>	75.40	5.85	29.1	3.3152	20.7200	2.470	4.30	4.23	8.43
	Medium / <i>Moyenne</i>	64.00	4.87	28.8	2.9008	18.1700	4.130	6.30	5.55	9.51
	Mature / <i>Mature</i>	62.80	4.69	36.3	2.4864	15.5400	4.162	6.12	4.35	11.67
	Mean / <i>Moyenne</i>	67.40	5.13	31.4	2.9008	18.14330	3.5873	5.57	4.71	9.87
VLT / VTF		12.99 ^{**}	15.47 ^{**}	0.02 ^{NS}	1.64 ^{NS}	1.64 ^{NS}	3.41 [*]	132.41 ^{***}	60.90 ^{***}	6.98 [*]
VFP / VPH		1.91 ^{NS}	69.73 ^{***}	2.58 ^{NS}	8.01 [*]	8.25 [*]	61.82 ^{***}	0.07 ^{NS}	3.85 ^{NS}	31.61 ^{**}
CV (%)		4.08	2.93	13.95	8.54	8.49	9.46	2.35	2.64	8.58

Percentage on a dry oven basis / Pourcentage calculé par séchage au four.

NS : Not significant / Non significatif.

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

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

*** Significant at 0.1 % level / Significatif au seuil de 0,1 %.

VLT / VTF : Variance (F) between leaf types / Variance (F) entre les types de feuilles.

VFP / VPH : Variance (F) between food plants / Variance (F) entre les plantes hôtes.

CV : Co-efficient of variation / Coefficient de variation.

(13.95 %) and *Careya arborea* (8.27 %) in comparison to the protein content recorded in the present study in *Machilus bombycina* (15.75 %) and *Litsaea polyantha* (18.14 %).

Crude fat :

The fat levels were recorded in an increasing trend with the increasing age and maturity of the leaves in both food plants (significant at 5 % level). Moreover, the fat % was significantly higher in Som leaves in comparison to Soalu leaves (significant at 0.1 % level). This finding is slightly at variance with that of Pathak (1988) who reported a considerably lower fat % in the medium leaves as against tender and matured leaves of eri food plants, viz. *Ricinus communis* (tender 4.5 %, medium 3.8 %, mature 6.3 %), *Heteropanax fragrans* (tender 4.8 %, medium 3.6 %, mature 6.6 %), *Manihot utilissima* (tender 3.5 %, medium 2.7 %, mature 5.3 %). Sinha and Jolly (1971) reported a considerably low level of crude fat in the food plants of the tasar silkworm, viz. *Shorea robusta* (0.90 %), *Terminalia tomentosa* (0.80 %) and *Terminalia arjuna* (1.30 %).

Crude fibre :

The crude fibre content recorded a negligible difference (0.01 %) between Som and Soalu, with an increasing trend with the maturity of the leaves in both food plants (significant at 0.1 % level) except that the medium age of leaves of Soalu fluctuated unevenly for the crude fibre (6.30 %) in comparison to matured leaves (6.12 %). Agarwal *et al.* (1980) stated that the crude fibre plays a very important role in the feeding of larvae. A negative correlation exists between the crude fibre and feeding of the larvae, showing that the lesser the percentage of crude fibre, the better will be the rearing results. Roeder (1953) reported that silkworms have the ability to digest crude fibre to the extent of 0.7 % as against 74 % by the animals. Jolly *et al.* (1974) recorded minimum crude fibre in *Terminalia arjuna* (7.77 %) and maximum in *Lagerstroemia parviflora* (20.28 %) among eleven food plants of tasar silkworms (*Antheraea mylitta* D.). Furthermore, Agarwal *et al.* (1980) reported maximum crude fibre in *Lagerstroemia speciosa* (20.28 %) and minimum (6.87 %) in *Lagerstroemia indica*.

Thus, Som and Soalu recorded a comparatively low percentage of crude fibre in comparison to tasar silkworm food plants which contribute a good nutritional value for feeding of the muga silkworm (*Antheraea assama* Westwood).

Total sugar :

The statistical analysis revealed that the total sugar % was insignificantly higher in Som when compared to Soalu. Furthermore, it was an interesting observation that medium-age leaves of Som and Soalu were higher in total sugar per cent when compared with the tender and mature leaves (significant at 0.1 % level). Thus, the medium age leaves of Som and Soalu were within stability limit for total sugar. Below and above that, it was in an increasing trend and decreasing trend, respectively. This finding is slightly at variance with that of Jolly *et al.* (1974) who reported a decreasing trend for total sugar % with the maturity of the leaves in tasar silkworm food plants, viz. *Shorea robusta*, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, *Zizyphus mauritania*, *Lagerstroemia parviflora* and an increasing trend in *Quercus incana*, *Terminalia belerica*, *Bauhinia variegata* and *Madhuca indica*.

Total starch :

The total starch % was found in an increasing trend with the age and maturity of the leaves in both food plants (significant at 5 % level). Som recorded a significantly higher starch % in comparison to Soalu. This finding differs from the findings of Jolly *et al.* (1974) in tasar food plants, who observed a declining trend for starch % in *Shorea robusta*, *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa* with the maturity of the leaves. Agarwal *et al.* (1980) observed a maximum starch content in *Lagerstroemia indica* (14.40 %) and minimum in *Careya arborea* (9.74 %) among five secondary food plants of the tasar silkworm. Jolly *et al.* (1974) reported a maximum starch content in *Zizyphus mauritania* (16.83 %) and minimum in *Madhuca indica* (8.75 %) among eleven food plants of the tasar silkworm.

Thus, the foliar analysis is most essential, which acts as a guideline in sericulture to evaluate the nutritional status of different food plants for their selection based on the nutritional value for the feeding of the silkworm and its development. Considering the prime importance of these two food

plants in muga silk industry, the study reveals that *Machilus bombycina* and *Litsaea polyantha*, which have a low percentage of crude fibre and a high percentage of minerals, nitrogen, crude protein, crude fat, sugar and starch, contribute good nutritional values since the muga silkworm provides better rearing results and silk content on these two food plants.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to Dr L. Dutta, Professor and Head, Biochemistry Department, Assam Agriculture University, Jorhat 785 001 (India), for providing laboratory facilities to complete this study.

REFERENCES

- AGARWAL S.C., JOLLY M.S., SINHA A.K. (1980) Foliar constituents of secondary food plants of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. Indian Forester, 106, 846-851.
- AOAC (1975) Official methods of Association of Agricultural Chemists. Hartwitz W. (ed.), Washington, 12th Edition.
- BHARALI N. (1969) History of muga silk industry in Assam. Indian Silk, 7(2), 13-14.
- CHANDRASHEKHAR M., THANGAVELU K. (1986) Muga silkworm food plants and their propagation methods. Lectures on Sericulture, Suramya Publishers, Bangalore, 129-130.
- CHAUDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, Guwahati, 19-71.
- GOMEZ K.A., GOMEZ A.A. (1984) Statistical procedure for agricultural research. An International Rice Research Book, John Wiley and Sons, 2nd Edition.
- HARTMANN H.T. (1986) Plant propagation principles and practices. Prentice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi.
- JOLLY M.S., SEN S.K., ASHAN M.M. (1974) Tasar Culture. 207-209.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979) FAO Agricultural Services Bulletin, 4-29, 121-126.
- JAWALE A.N., PATIL V.K., MALEWAR G.U. (1981) Variation in the nutritional elements in mulberry leaves. Indian J. Seric., 20, 35-38.
- KOHLI R.K., JOLLY M.S., KHAN M.A. (1969) Foliar constituents of food plants of tasar silkworm (*Antheraea mylitta* D.). Indian Forester, 95(9), 614-617.
- MOTIRAMANI D.P., WANKHADE R.D. (1970) Laboratory manual in agricultural chemistry. Asian publishers, Muzaffarnagar (U.P.), 80-129.
- PATHAK A.K. (1988) Studies on nutrition, growth and cocoon characters of eri silkworm (*Philosamia ricini* Hutt.) fed on different varieties of leaves. M.Sc. Thesis, Assam Agriculture University, Jorhat, 18-65.
- ROEDER K.D. (1953) Nutrition. In Insect physiology. John Wiley and Sons, New York.
- SINHA A.K., JOLLY M.S. (1971) Foliar constituents of food plants of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. Indian Forester, 97(5), 261-263.
- THANGAVELU K. (1986) Golden Muga Silk. Lectures on Sericulture, Suramya Publishers, Bangalore, 129-130.
- YADAV G.S., ISA MD, THANGAVELU K. (1985) Studies on taxonomy and floral biology of Som (*Machilus bombycina* King). Sericologia, 25(1), 63-70.
- YADAV G.S., GOSWAMI B.C. (1989) Correlation and regression studies between cocoon weight and shell weight of muga silkworm on two different types of food. Sericologia, 29(2), 219-224.

ETUDE SUR LES CONSTITUANTS FOLIAIRES DE SOM (*MACHILUS BOMBYCINA* KING) ET SOALU (*LITSAEA* *POLYANTHA* JUSS)

G.S. YADAV* & B.C. GOSWAMI

Department of Botany, Gauhati University, Guwahati - 781 014, Assam, Inde.

*Des études réalisées sur les constituants foliaires de Som (*Machilus bombycina*) et Soalu (*Litsaea polyantha*) ont révélé que Som présentait des contenus en minéraux totaux, en fibres brutes et en amidon supérieurs à ceux de Soalu. Par ailleurs, Soalu donne des valeurs nettement plus élevées que Som pour les contenus en azote total et en protéines brutes. Les différences entre Som et Soalu pour les contenus en eau, en carbone organique, en fibres brutes et en sucres ne sont pas significatives. Selon les types de feuilles, on observe des différences significatives pour les contenus en eau, en minéraux totaux, en matières grasses, en fibres et en amidon total alors que les différences ne sont pas significatives pour les contenus en carbone organique, en azote total et en protéines brutes.*

INTRODUCTION

Som (*Machilus bombycina* King) et Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) sont les deux plantes hôtes primaires du ver à soie muga *Antheraea assama* Westwood (Bharali, 1969 ; Jolly et coll., 1979 ; Chaudhury, 1981 ; Yadav et coll., 1985 ; Thangavelu, 1986 ; Chandrashekhar et Thangavelu, 1986 ; Yadav et Goswami, 1989). La soie muga est un monopole du nord-est de l'Inde depuis des temps immémoriaux et occupe une place distincte et prestigieuse dans le patrimoine culturel de cette région. Les facteurs abiotiques et les plantes hôtes influent largement sur la croissance et le développement du ver à soie muga et sur le poids de la coque, le contenu en soie et la dévidabilité (Chandrashekhar et Thangavelu, 1986). Le poids du cocon et le poids de la coque varient dans une certaine mesure suivant la plante hôte utilisée. Les cocons femelles des lots nourris avec Soalu pondent davantage d'oeufs et sont plus lourdes que ceux des lots nourris avec Som, alors que les lots nourris avec Som donnent de meilleurs rendements en soie (Yadav et Goswami, 1989). La qualité des feuilles, qui dépend des contenus en eau, en azote, en protéines, en minéraux, en graisses, en fibres brutes, en sucres, en amidon, etc., joue un rôle déterminant dans la croissance et le développement des vers à soie et dans la production de cocons sains (Kohli et coll., 1969 ; Sinha et Jolly, 1971 ; Agarwal et coll., 1980). Les constituants foliaires chez les feuilles de différentes flores séricicoles varient d'une espèce à l'autre. Il existe suffisamment d'informations sur les constituants foliaires des plantes nourricières du ver à soie tasar (Kohli et coll., 1969 ; Sinha et Jolly, 1971 ; Agarwal et coll., 1980) et sur les plantes hôtes du ver à soie eri (Pathak, 1988), mais on ne trouve aucune information sur les constituants foliaires des plantes nourricières du ver à soie muga. Cette étude traite donc des différents constituants foliaires des deux plantes nourricières primaires du ver à soie muga.

* Adresse actuelle : Central Muga Research and Training Institute, P.B. 96, Jorhat 785001, Assam, Inde.

MATERIELS ET METHODES

Des échantillons de feuilles tendres, moyennes et matures de Som et de Soalu ont été prélevés individuellement au Central Muga Research and Training Institute de Jorhat (Assam, Inde) (latitude 26° 7' N, longitude 94° 2' E, altitude 72 m). L'analyse biochimique a été faite au laboratoire de biochimie de l'Assam Agriculture University de Jorhat (Assam, Inde) de décembre 1988 à février 1989. Les constituants, à savoir l'eau, les minéraux, les matières grasses brutes, les fibres brutes, les sucres totaux et l'amidon, ont été évalués (AOAC, 1975). L'azote a été évalué d'après la méthode de micro-Kjeldahl et le pourcentage en azote a été multiplié par 6,25 pour déterminer les protéines totales. Les carbones organiques ont été évalués suivant la méthode décrite par Motiramani et Wankade (1970). L'estimation a été faite deux fois et la valeur moyenne a été calculée pour permettre l'interprétation des résultats. Les données ont été analysées statistiquement d'après l'analyse de variance pour les types de feuilles et pour les plantes nourricières suivant la méthode des blocs aléatoires. Le coefficient de variation (CV %) a été calculé suivant la méthode décrite par Gomez et Gomez (1984).

RESULTATS ET DISCUSSION

Humidité :

Le pourcentage d'humidité est élevé chez les feuilles tendres de Som et de Soalu, puis il diminue progressivement à mesure que la feuille vieillit. Les résultats font apparaître une différence significative (au seuil de 1 %) entre les types de feuilles et une différence non significative entre les plantes nourricières. L'écart expérimental, exprimé en pourcentage de la moyenne (CV %) et fixé à 4,08 % comme degré de précision, permet de comparer les valeurs moyennes entre les plantes nourricières et entre les types de feuilles.

Minéraux totaux :

Les minéraux totaux sont plus élevés chez les feuilles tendres de Som et de Soalu. On observe une diminution significative (au seuil de 1 %) du pourcentage de minéraux totaux lorsque les feuilles vieillissent. De plus, le pourcentage de minéraux est significativement plus élevé ($P < 0,01$) chez Som que chez Soalu.

Carbone organique total :

Le pourcentage de carbone organique total est maximal chez les feuilles tendres de Som et minimal chez les feuilles tendres de Soalu, avec une augmentation et une diminution progressives non significatives respectivement pour Som et pour Soalu, à mesure que la feuille vieillit. De plus, le rapport C/N est nettement plus élevé chez Som (14,18) que chez Soalu (10,82). Le fait que le rapport C/N soit élevé joue un rôle important dans le développement des racines et des pousses des boutures ; les boutures ayant un rapport C/N faible ne parviennent pas à raciner (Hartmann, 1986).

Azote total :

Les feuilles tendres de Som et de Soalu ont un pourcentage d'azote élevé. Il diminue ensuite à mesure que la feuille vieillit chez les deux plantes nourricières. Ce résultat est en tout point identique à celui de Jawale et coll. (1981) qui ont observé, chez le mûrier, que les jeunes feuilles étaient plus riches en azote que les feuilles d'âge moyen et les feuilles matures. La variation entre les types de feuilles pour le pourcentage d'azote n'est pas significative. Cependant, les feuilles de Soalu ont un pourcentage d'azote significativement plus élevé que celles de Som ($P < 0,05$).

Protéines brutes :

La comparaison du pourcentage de protéines brutes (pourcentage d'azote $\times 6,25$) entre Som et Soalu permet de confirmer que la valeur moyenne pour les protéines brutes est nettement plus élevée ($P < 0,05$) chez les feuilles de Soalu, avec une variation non significative entre les types de feuilles. Pathak (1988) a relevé des contenus nettement plus élevés en protéines brutes chez *Ricinus communis* (23,80 %), *Heteropanax fragrans* (20,7 %) et *Manihot utilissima* (19,8 %) tandis qu'Agarwal et coll.

(1980) ont observé des teneurs plus faibles en protéines brutes chez *Lagerstroemia indica* (9,7 %), *Dalbergia sisoo* (15,5 %), *Terminalia paniculata* (8,37 %), *Lagerstroemia speciosa* (13,95 %) et *Careya arborea* (8,27 %) que celles relevées dans cette étude pour *Machilus bombycina* (15,75 %) et *Litsaea polyantha* (18,14 %).

Matières grasses brutes :

Les niveaux de matières grasses tendent à augmenter avec l'âge et la maturation des feuilles chez les deux plantes nourricières (significatif au seuil de 5 %). De plus, le pourcentage de matières grasses des feuilles est nettement plus élevé chez Som que chez Soalu (significatif au seuil de 0,1 %). Ce résultat est en léger désaccord avec celui de Pathak (1988) qui a observé un pourcentage de matières grasses considérablement plus faible chez les feuilles d'âge moyen que chez les feuilles tendres et mures des plantes nourricières *eri*, *Ricinus communis* (tendre 4,5 %, moyenne 3,8 %, mure 6,3 %), *Heteropanax fragrans* (tendre 4,8 %, moyenne 3,6 %, mure 6,6 %), *Manihot utilissima* (tendre 3,5 %, moyenne 2,7 %, mure 5,3 %) Sinha et Jolly (1971) ont observé un niveau de matières grasses brutes extrêmement bas chez les plantes nourricières du ver à soie *tasar*, *Shorea robusta* (0,90 %), *Terminalia tomentosa* (0,80 %) et *Terminalia arjuna* (1,30 %).

Fibres brutes :

Le contenu en fibres brutes observé fait apparaître une différence négligeable (0,01 %) entre Som et Soalu et tend à augmenter à mesure que la feuille vieillit chez les deux plantes nourricières (significatif au seuil de 0,1 %), bien que les feuilles d'âge moyen de Soalu aient un contenu variable en fibres brutes (6,30 %) par rapport aux feuilles mures (6,12 %). Agarwal et coll. (1980) ont établi que les fibres brutes jouaient un rôle très important dans le nourrissage des larves. Il existe une corrélation négative entre les fibres brutes et le nourrissage des larves indiquant que les résultats d'élevage seront d'autant meilleurs que le pourcentage de fibres brutes sera faible. Roeder (1953) a observé que les vers à soie ont la capacité de digérer jusqu'à 0,7 % de fibres brutes alors que les animaux en digèrent 74 %. Jolly et coll. (1974) ont enregistré un taux de fibres brutes minimal chez *Terminalia arjuna* (7,77 %) et maximal chez *Lagerstroemia parviflora* (20,28 %) lors de l'étude de 11 plantes nourricières du ver à soie *tasar* (*Antheraea mylitta* D.). En outre, Agarwal et coll. (1980) ont observé un taux de fibres brutes maximal (20,28 %) chez *Lagerstroemia speciosa* et minimal (6,87 %) chez *Lagerstroemia indica*.

Som et Soalu donnent donc des pourcentages de fibres brutes relativement faibles par rapport aux plantes nourricières du ver à soie *tasar*, facteurs d'une bonne valeur nutritive dans le nourrissage du ver à soie *muga* (*Antheraea assama* Westwood).

Sucres totaux :

L'analyse statistique révèle que le pourcentage de sucres totaux n'est pas significativement plus élevé chez Som que chez Soalu. De plus, il est intéressant de noter que les feuilles d'âge moyen de Som et de Soalu ont un pourcentage de sucres totaux plus élevé que les feuilles tendres et mures (significatif au seuil de 0,1 %). Les feuilles d'âge moyen de Som et de Soalu ne dépassent donc pas le seuil d'instabilité pour les sucres totaux. Chez les plus jeunes, le pourcentage tend à augmenter et chez les plus vieilles, il tend à diminuer. Ce résultat est en légère contradiction avec celui de Jolly et coll. (1974) qui ont observé une tendance à la diminution pour les sucres totaux à mesure que la feuille vieillissait chez les plantes nourricières du ver à soie *tasar* : *Shorea robusta*, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, *Zizyphus mauritania*, *Lagerstroemia parviflora* et une tendance à l'augmentation chez *Quercus incana*, *Terminalia belerica*, *Bauhinia variegata* et *Madhuca indica*.

Amidon total :

Le pourcentage d'amidon total augmente à mesure que la feuille vieillit chez les deux plantes nourricières (significatif au seuil de 5 %). Som donne un pourcentage d'amidon significativement plus élevé que Soalu. Ce résultat diffère des résultats de Jolly et coll. (1974) qui ont observé, sur les plantes nourricières *tasar*, une tendance à la diminution pour le pourcentage d'amidon chez *Shorea robusta*, *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa* lorsque les feuilles vieillissent. Agarwal et coll. (1980) ont observé un contenu en amidon maximal chez *Lagerstroemia indica* (14,40 %) et minimal

chez *Careya arborea* (9,74 %) lors de l'étude de cinq plantes nourricières secondaires du ver à soie tasar. Jolly et coll. (1974) ont observé un contenu en amidon maximal chez *Zizyphus mauritania* (16,83 %) et minimal chez *Madhuca indica* (8,75 %) lors de l'étude de 11 plantes nourricières du ver à soie tasar.

L'analyse foliaire est donc indispensable car elle donne des indications permettant d'évaluer les qualités nutritionnelles de différentes plantes nourricières et de sélectionner ces plantes en fonction de leur valeur nutritive pour le nourrissage du ver à soie et son développement. Compte tenu de l'importance capitale de ces deux plantes dans l'industrie de la soie muga, cette étude révèle que *Machilus bombycina* et *Litsaea polyantha*, qui ont un faible pourcentage de fibres brutes et un pourcentage élevé de minéraux, d'azote, de protéines brutes, de matières grasses brutes, de sucre et d'amidon, ont de bonnes valeurs nutritionnelles, le ver à soie muga donnant de meilleurs résultats en termes d'élevage et de richesse soyeuse sur ces deux plantes hôtes.

POTENTIALS OF PROPAGATION THROUGH LEAF BUD CUTTINGS OF SOM, *MACHILUS BOMBYCINA* KING (LAURACEAE)

M. DEVNATH, MD. ISA*, M.V. SAMSON**, A.K. SENGUPTA⁽¹⁾ & RAJARAM

Host Plant Division, Regional Muga Research Station, Boko - 781 123, Assam, India.

* Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, India.

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

A leaf bud cutting consisting of a leaf blade, a petiole and a short piece of the stem with the attached axillary bud takes about 53.75 days on an average for root initiation. The maximum rooting, number of primary roots and survival percentage of such cuttings to the tune of 51.6 % and 60.0 %, 4.3 numbers and 93.5 % and 87.5 % were recorded during I and IV seasons (September-November and June to August). June to October is the best period for propagation of Machilus bombycina King by this method.

Keywords : *Machilus bombycina*, *Antheraea assama*, vegetative propagation, leaf bud cutting, different seasons.

INTRODUCTION

Much emphasis is laid on the artificial regeneration of the food plants of silkworms in the sericulture industry. A multiplication by vegetative means offers the advantage of greater genetic uniformity and immediate availability of superior ones not only for silkworm rearing alone but also for resistance to diseases and pests, good branching with rooting capacity, stress resistance, faster growth, quantitative and qualitative production of leaves in the shortest possible time, these factors support directly or indirectly raw silk production. Nursery raising through seeds, on the other hand, leads to genetic heterogeneity, cannot fully meet the increasing demand and takes a long time for eventual planting out in the field.

With the increasing demand for suitable plant varieties for silkworm rearing and also for optimising biomass production, the importance of vegetative propagation has increased.

In the muga industry several researchers worked on the vegetative propagation of *Machilus bombycina* King, the food plant of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., through stem cutting and air-layering (Chowdhury, 1965 ; Isa and Sinha, 1981 ; Suryanarayana *et al.*, 1985). However, through the air-layering technique it is not possible to obtain plants at commercial level because the technique is comparatively costly and requires special skill and stem cutting did not achieve much success. We report here the technique of leaf bud cutting which is the easiest and cost-effective because huge numbers of cuttings can be prepared and suitable plant varieties can be obtained in large numbers from elite plants.

(1) To whom correspondence should be addressed.

MATERIALS AND METHODS

Leaf bud cuttings were prepared from the apical portion of tender shoots (irrespective of the age of the plant) having a small piece of branch about 4 cm long with only one node and a leaf. About 3 cm of the cuttings were inserted into the rooting medium consisting of clean river sand in polythene tubes (9" × 6"). The polythene tubes were arranged in pits measuring 2 × 1 × 0.5 m (Fig. 1, 2 and 6) under a thatched shed to provide shade to the cuttings. Watering was done regularly after every four hours during daytime to restore a high amount of atmospheric moisture inside the pit, the opening of the pit was kept covered with a polythene sheet for 23 hours a day and continued for the entire period of about 2 months. A replicated trial was given with 3 replications having 100 cuttings in each replication. To ascertain the best season for leaf bud cutting the experiment was conducted during four different seasons, viz. season I (September-November), season II (December to February), season III (March to May) and season IV (June to August) from 1987-1989. The data for the rooting percentage, number of primary and secondary roots per leaf bud cutting, length of the longest root, survival percentage, number of leaves on new sprouting and length of the new sprouting were recorded after 6 months.



Fig. 1 : The pit containing leaf bud cuttings in polythene tubes.

Fig. 1 : Silo contenant les boutures herbacées placées dans des tubes en polyéthylène.



Fig. 2 : Pit covered with a polythene sheet.

Fig. 2 : Silo recouvert d'une housse en polyéthylène.

RESULTS AND DISCUSSION

Performance of leaf bud cuttings in different seasons and the average values of maximum and minimum temperature, relative humidity and rainfall monthwise (1987-1989) have been given in Table I and Table II, respectively.

It is evident from Table I that root initiation takes place after 53.75 days on an average in all the seasons. The observations recorded in Table I also reveal maximum rooting about 60.00 % during season I (September-November) followed by season IV about 51.60 % (June to August). The statistical analysis of the data clearly signifies that seasons I and IV were significantly better over seasons II and III.

The rooting behaviour, especially the number of primary roots, followed the same pattern of rooting (Table I). The maximum number of primary roots recorded was 4.30 number on an average in both seasons I and IV and were significantly higher over the two seasons.

The length of the longest root ranged from 11.5 cm to 12.3 cm. The average number of secondary roots was highest during June-July (26.2) followed by September-October (25.7), December-January (23.5) and March-April (23.3) in descending order. The maximum length of the branch could be recorded in season IV and was about 2.2 cm, while the number of leaves in a new branch ranged from 2.3-3.0 in the different seasons. However, the comparison of the different seasons for all these attributes revealed insignificant seasonal effects.

On the contrary, when the survival percentages of rooted leaf bud cuttings were compared and evaluated, it was found that the maximum percentage of survival, about 93.5 %, was during June-August followed by 87.51 % in season I (September-November). Seasonal variations between

Table I. Propagation of *Machilus bombycina* King by leaf bud cutting.Tableau I. Multiplication de *Machilus bombycina* King par bouturage herbacé.

Seasons	Minimum period for root initiation (days)	Rooting %	Survival %	Number of primary roots per leaf bud cutting	Number of secondary roots per leaf bud cutting	Length of the longest root (cm)	Number of leaves on new sprouting	Length of the new sprouting (cm)
Saisons	Période minimale pour l'initiation de la racine (jours)	Racinement (%)	Survie (%)	Nombre de racines primaires par bouture herbacée	Nombre de racines secondaires par bouture herbacée	Longueur de la racine la plus longue (cm)	Nombre de feuilles sur la nouvelle pousse	Longueur de la nouvelle pousse (cm)
I	50	60.0	87.5	4.3	25.7	12.2	2.6	2.1
II	53	45.0	55.2	3.7	23.5	11.5	2.3	1.7
III	60	38.3	59.7	3.4	23.3	11.7	2.9	2.0
IV	52	51.6	93.5	4.3	26.2	12.3	3.0	2.2
CD		18.10	13.3	0.46	NS	NS	NS	NS

CD ($p = 0.05$)

NS : Not significant / Non significatif.

these two seasons were insignificant but both seasons I and IV were found to contribute significantly for the survival of the cuttings over seasons II and III.

Table II. Average monthly maximum and minimum temperatures, relative humidity and rainfall from 1987-1989.

Tableau II. Températures minimales et maximales, humidité relative et pluviométrie moyennes mensuelles de 1987 à 1989.

Months	Average temperature (°C)		Average relative humidity (%)	Rainfall (mm)
	Maxi.	Mini.		
Mois	Température moyenne (°C)		Humidité relative moyenne (%)	Pluviométrie (mm)
	Maximale	Minimale		
September / Septembre	30.40	25.06	84.58	334
October / Octobre	27.87	22.87	81.95	296
November / Novembre	26.90	20.21	81.37	12
December / Décembre	24.62	17.27	79.92	5
January / Janvier	24.25	15.25	82.57	7
February / Février	22.39	15.73	63.86	26
March / Mars	26.56	21.48	71.98	156
April / Avril	29.73	25.58	76.60	264
May / Mai	33.08	27.79	73.27	121
June / Juin	31.65	28.09	81.21	255
July / Juillet	31.00	26.77	87.38	699
August / Août	31.36	27.21	90.79	176

A leaf bud cutting consists of a leaf blade, a petiole and a short piece of the stem with the attached axillary bud are of particular value in plants where adventitious roots but not adventitious shoots are initiated from the detached leaves, the axillary bud at the base of the petiole provides for the new shoot (Fig. 3, 4 and 5).

A number of plant species such as the black raspberry (*Rubus occidentalis*), blackberry, boysenberry, lemon, camellia and rhododendron are readily started by leaf bud cuttings (Hartmann and Kester, 1986), a similar observation has also been reported by Tewari and Pathak (1987) in Indian rubber, *Decora*.

In conclusion it can very well be said that the season plays a very important role and June to November is the best period, covering seasons I and IV, for propagating *Machilus bombycina* King, the muga silkworm food plant, through leaf bud cuttings because possibly congenial climatic conditions in the form of higher temperature, high relative humidity and higher rainfall prevail. During the favourable seasons over a period of months from June to November, the average monthly maximum temperature ranges from 31.65 to 26.90 and minimum from 28.09 to 20.21 while high



Fig. 3 : Cuttings when made.

Fig. 3 : Bouture herbacée.

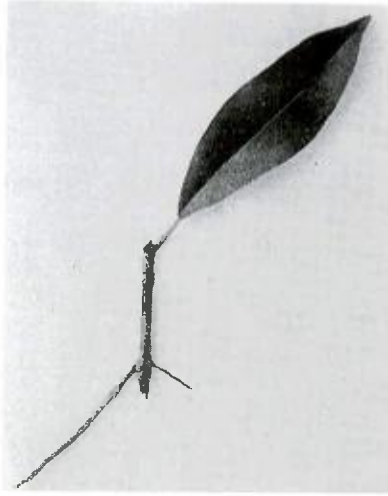


Fig. 4 : Rooted leaf bud cutting.

Fig. 4 : Bouture herbacée racinée.

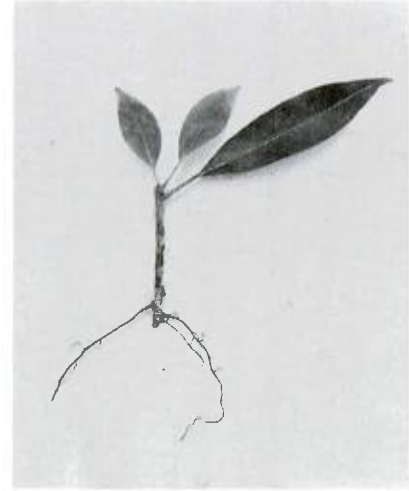


Fig. 5 : Rooted leaf bud cutting with initiation of new shoots.

Fig. 5 : Bouture racinée présentant de nouvelles pousses.

atmospheric humidity varies between 81 % and 90 % in different months, which is also substantiated by a higher rainfall ranging from 699 mm to 176 mm in different months (Table II). Hartmann and Kester (*op. cit.*) have reported that high humidity is essential and bottom heat is desirable for rapid rooting and situations are automatically provided by seasons I and IV. Therefore, we find a great influence of seasons in achieving success of vegetative propagation through leaf bud cuttings in the muga host plant, *M. bombycina* King.

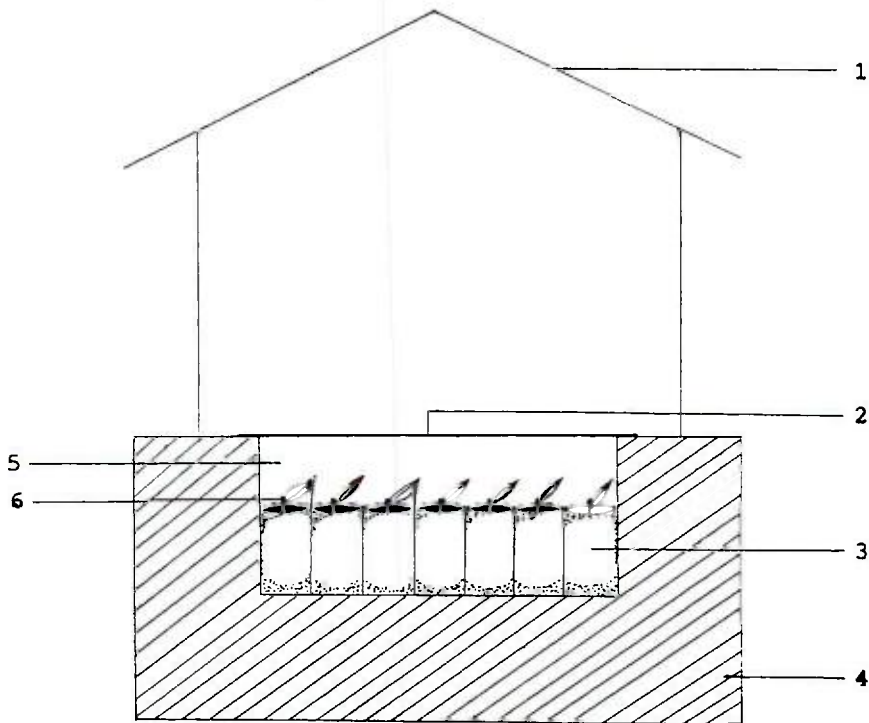


Fig. 6 : Diagrammatic representation of the detailed method of leaf bud cutting.

Fig. 6 : Représentation schématique de la méthode de bouturage herbacé.

1. Thatch shed / Cabane à toit de chaume.
2. Polythene sheet covering / Housse en polyéthylène.
3. Polythene tube filled with clean river sand / Tube en polyéthylène rempli de sable de rivière propre.
4. Soil / Terre.
5. Pit / Silo.
6. Leaf bud cuttings / Boutures herbacées.

However, work is under progress to achieve further improvement in this direction with hormonal treatments as well as trial with different morphotypes which have recently been identified, isolated and are under the maintenance of the germplasm bank of muga food plants at Regional Muga Research Station.

REFERENCES

- CHOWDHURY S.N. (1965) Studies on the propagation of 'Som' (*Machilus bombycina*) by stem cuttings with the aid of growth regulators. *Indian Agriculturist*, 19(1), 82-83.
- HARTMANN H.T., KESTER D.E. (1986) *Plant Propagation*. Prentice and Hall of India, Ed., 4, 313-314.
- ISA M., SINHA S.S. (1981) *Proc. of Sericulture Symposium and Seminar*, Coimbatore, 69.
- SURYANARAYANA N., ISA M., YADAV G.S. (1985) *Proc. of National Symposium on recent advances in developmental morphology of the crop plants*, Waltair, 50.
- TEWARI G.N., PATHAK R.K. (1987) Propagate India rubber 'Decora' through leaf-shoot cutting. *Indian Horticulture*, 31(4), 28.

POTENTIELS DE MULTIPLICATION DE SOM, *MACHILUS BOMBYCINA* KING (LAURACEAE), PAR BOUTURAGE HERBACE

M. DEVNATH, MD. ISA*, M.V. SAMSON**, A.K. SENGUPTA⁽¹⁾ & RAJARAM

Host Plant Division, Regional Muga Research Station, Boko - 781 123, Assam, Inde.

* Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, Inde.

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

*Une bouture herbacée, composée d'une feuille, d'un pétiole et d'un petit morceau de tige comprenant un bourgeon axillaire, met environ 53,75 jours à raciner. Ces boutures ont un racinement maximal de 51,6 % à 60,0 %, un nombre de racines primaires de 4,3 et un pourcentage de survie de 93,5 % à 87,5 % au cours des saisons I et IV (septembre à novembre et juin à août). La période de juin à octobre est la période la plus favorable à la reproduction de *Machilus bombycina* King par cette méthode.*

INTRODUCTION

On accorde beaucoup d'importance à la régénération artificielle des plantes nourricières des vers à soie dans l'industrie séricicole. La reproduction par des méthodes végétatives présente l'avantage de permettre une plus grande uniformité génétique et de disposer immédiatement de plantes supérieures non seulement pour l'élevage des vers à soie mais également pour ce qui concerne la résistance aux maladies et aux parasites, une meilleure ramification avec une bonne capacité de racinement, la résistance au stress, une croissance plus rapide et un rendement qualitatif et quantitatif en feuilles dans le laps de temps le plus court possible ; tous ces facteurs influent directement ou indirectement sur la production de soie grège. Par ailleurs, la culture en pépinière des graines, qui entraîne l'hétérogénéité génétique, ne permet pas de répondre pleinement à la demande croissante et nécessite un délai assez long avant la plantation en mûraie.

Du fait de la demande croissante de variétés de plantes adaptées à l'élevage des vers à soie et de l'optimisation de la production de biomasse, la reproduction végétative a pris une nouvelle ampleur.

Dans l'industrie muga, plusieurs chercheurs ont travaillé sur la reproduction végétative de *Machilus bombycina* King, plante nourricière du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww. par bouturage des tiges et stratification (Chowdhury, 1965 ; Isa et Sinha, 1981 ; Suryanarayana et coll., 1985). Cependant, la méthode de la stratification de ne permet pas d'obtenir des plants à l'échelle commerciale car cette technique est comparativement onéreuse et nécessite des qualifications spécifiques et le bouturage des tiges ne donne pas des résultats excellents. Nous décrivons ici la technique du bouturage herbacé, technique simple et rentable, qui permet de préparer des boutures en grand nombre et d'obtenir de nombreuses variétés de plantes adaptées à partir de plantes élit.

(1) Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

MATERIELS ET METHODES

Les boutures herbacées sont préparées à partir de la partie apicale de jeunes pousses (quel que soit l'âge du plant) comportant un petit morceau de branche d'environ 4 cm de long avec un seul noeud et une feuille. Les boutures sont insérées jusqu'à environ 3 cm dans le milieu de racinement composé de sable propre de rivière dans des tubes en polyéthylène (9" x 6"). Les tubes en polyéthylène sont disposés dans des silos mesurant 2 x 1 x 0,5 m (Fig. 1, 2 et 6) abrités du soleil par une cabane recouverte de chaume. L'arrosage est effectué toutes les quatre heures pendant la journée pour maintenir un contenu élevé en humidité atmosphérique à l'intérieur du silo ; l'ouverture du silo est recouverte d'une housse en polyéthylène 23 heures sur 24 pendant environ 2 mois. L'expérience est répartie en 3 réplicats de 100 boutures. Pour déterminer la saison la plus favorable au bouturage herbacé, l'expérience a été réalisée pendant 4 saisons différentes, à savoir : saison I (septembre à novembre), saison II (décembre à février), saison III (mars à mai) et saison IV (juin à août) de 1987 à 1989. Les données concernant le pourcentage de racinement, le nombre de racines primaires et secondaires par bouture herbacée, la longueur maximale de la racine, le pourcentage de survie, le nombre de feuilles sur les nouveaux bourgeons, ont été relevées après 6 mois.

RESULTATS ET DISCUSSION

La performance des boutures herbacées au cours des différentes saisons, d'une part, et les valeurs moyennes de la température maximale et minimale, de l'humidité relative et la pluviométrie mensuelle (de 1987 et 1989), d'autre part, sont données respectivement dans les tableaux I et II.

Le tableau I montre clairement que le racinement apparaît en moyenne après 53,75 jours pour toutes les saisons. Les observations portées dans le tableau I font apparaître un racinement maximal d'environ 60 % au cours de la saison I (septembre à novembre), puis d'environ 51,60 % à la saison IV (juin à août). L'analyse statistique des données confirme que les saisons I et IV sont significativement meilleures que les saisons II et III.

Le comportement de racinement, en particulier le nombre de racines primaires, suit le même modèle que le racinement (Tableau I). Le nombre maximal de racines primaires relevé est de 4,30 en moyenne aussi bien à la saison I qu'à la saison IV et est significativement supérieur à celui des deux autres saisons.

La longueur maximale de la racine se situe entre 11,5 et 12,3 cm. Le nombre moyen de racines secondaires est maximal de juin à juillet (26,2) puis, dans l'ordre décroissant, de septembre à octobre (25,7), de décembre à juin (23,5) et mars à avril (23,3). La longueur maximale d'une ramification est observée à la saison IV et est d'environ 2,2 cm, tandis que le nombre de feuilles sur une nouvelle ramification varie de 2,3 à 3,0 en fonction des différentes saisons. Cependant, la comparaison des différentes saisons pour tous ces caractères révèle des effets saisonniers non significatifs.

A l'inverse, la comparaison et l'évaluation des pourcentages de survie révèlent que le pourcentage maximal de survie, d'environ 93,5 %, apparaît entre juin et août ; il passe ensuite à 87,51 % à la saison I (septembre à novembre). Les variations saisonnières entre ces deux saisons ne sont pas significatives mais la saison I et la saison IV sont toutes deux nettement plus propices à la survie des boutures que les saisons II et III.

Une bouture herbacée est composée d'une feuille, d'un pétiole et d'un petit morceau de tige comprenant le bourgeon auxiliaire ; ces éléments sont particulièrement utiles chez les végétaux produisant des racines adventives mais pas de pousses adventives à partir des feuilles détachées, le bourgeon axillaire à la base du pétiole étant utilisé pour la nouvelle pousse (Fig. 3, 4 et 5).

Un certain nombre d'espèces végétales, comme la fraise noire (*Rubus occidentalis*), la mûre, la baie boysen, le citron, le camélia et le rhododendron se prêtent facilement au bouturage herbacé (Hartmann et Kester, 1986) ; Tewari et Pathak ont fait une observation similaire chez le caoutchouc d'Inde *Decora*.

En conclusion, on peut dire que la saison joue un rôle très important et que la période allant de juin à septembre, c'est-à-dire les saisons I et IV, est la période la plus favorable à la reproduction de *Machilus bombycina* King, plante nourricière du ver à soie muga, par bouturage herbacé probablement en raison des conditions climatiques propices à cette époque de l'année avec une température, une

humidité relative et une pluviométrie élevées. Pendant les saisons favorables allant de juin à novembre, la température moyenne mensuelle se situe entre 31,69 et 29,60 pour les températures maximales et entre 28,09 et 20,21 pour les températures minimales et l'humidité atmosphérique varie de 81 % à 90 % ; la pluviométrie élevée, de 699 mm à 176 mm au cours des différents mois, contribue également à rendre les conditions climatiques favorables (Tableau II). Hartmann et Kester (*op. cit.*) ont observé qu'une humidité élevée était essentielle et un sol chaud souhaitable pour un racinement rapide, conditions qui sont réunies pendant les saisons I et IV. Il apparaît donc que les saisons contribuent largement au succès de la reproduction végétative des boutures herbacées chez la plante hôte muga *M. bombycina* King.

Cependant, des études sont en cours afin d'obtenir des améliorations par traitements hormonaux de différents morphotypes récemment identifiés et isolés et qui sont conservés à la banque génétique des plantes hôtes muga de la Regional Muga Research Station.

GENETIC DIVERSITY IN HALF-SIB SEEDLINGS OF *TERMINALIA ARJUNA* BEDD.

P.K. SRIVASTAV, A.A. SIDDIQUI & A.K. GOEL

Plant Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska
Nagri, Ranchi - 835 303, India.

The multivariate analysis of divergence among the half-sib seedlings of twenty-four superior trees of Terminalia arjuna for seedling height and three leaf characters showed grouping of all the 24 superior/plus trees (biotypes) into 8 clusters. While clusters I and II had 6, III and IV had 4 and remaining clusters V-VIII had one superior/plus tree (biotype) each, suggesting that these four varieties (biotypes) diverged most from the others. Based on such studies, seedling height, leaf length:leaf width, leaf width and leaf length were found to contribute 88.04, 5.8, 3.62 and 2.54 % respectively towards divergence. The intercluster D^2 values ranged from 2.638 to 18.148, suggesting a wide diversity between the populations. The canonical analysis also confirmed the genetic diversity measured by D^2 statistics.

Keywords : Half-sib seedlings, D^2 , canonical, diversity, biotypes.

INTRODUCTION

Terminalia arjuna, well recognized in the tasar silk industry as one of the best food plant of the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D., has also been exploited in pharmaceutical, timber, tannin and leather industries (Chopra *et al.*, 1974 ; Singh *et al.*, 1983). India being the largest supplier of tasar silk to the world market earns nearly 9 crores of foreign exchange annually with its limited cultivation in tropical/subtropical States only. The reasons for low yield could be the non-availability of high-yielding varieties of food plants with quality foliage as most of the tasar produce comes from forests where rearing is undertaken on the heterogenous population of *Terminalia tomentosa* or from *T. arjuna* raised under the Inter-State Tasar Project (ISTP) and lack of inputs.

In order to have an extensive breeding programme for high yields, quality of leaves and response to inputs, the knowledge of genetic diversity in the crop is essential. In the present investigation, an attempt has been made to obtain information on the genetic divergence among the half-sib seedlings of 24 superior trees, their correlation with the geographical/ecological background and identification of the parental groups likely to yield superior segregates in crosses on the basis of seedling height and three foliage characters.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-four superior (plus) trees were selected and marked in the forests of Madhya Pradesh, Orissa and Bihar as detailed in Table III. The seeds of all these superior trees were germinated following the standard nursery technique. The germinated seeds were dibbled in polythene tubes containing a uniform rooting medium composed of FYM, soil and sand in 3:2:1 ratio. Three replications, each containing 50 seedlings, were made for the progenies of every superior tree which were treated as different treatments. The germination started w.e.f. 4.7.87 to 8.7.87 and the measurements were taken from 4.9.87 to 5.9.87 for leaf length, leaf width, length:width ratio of leaves

and seedling height. Canonical analysis and Mahalanobis's (1936) generalised distance were used for assessing the genetic divergence between populations. The transformation of correlated variables into uncorrelated variables and grouping by Tochers approach was made as described by Rao (1952). The canonical analysis was done as discussed by Anderson (1959).

RESULTS

The analysis of variance for all the four seedling characters revealed significant differences between the progenies of superior trees (Table I). The maximum variation was observed for leaf length and leaf width ratio, followed by seedling height and leaf width. The lowest differences were observed for leaf length. After computing the individual D^2 values, the progenies of plus trees were grouped into eight clusters (Table II). The seedling progenies of superior/plus trees (biotypes) within the individual clusters had a smaller D^2 among themselves than those belonging to any different cluster. The grouping based on Mahalanobis D^2 statistics does not conform to the geographical origin of the genotypes (Table III).

Table I. ANOVA showing F values.

Tableau I. Analyse de variance montrant les valeurs de F.

Characters	MSS	F Value
Caractères	MSS	Valeur de F
Leaf length / <i>Longueur de feuille</i>	3.943	6.59**
Leaf width / <i>Largeur de feuille</i>	0.920	8.65**
L/W	1.268	20.26**
Seedling height / <i>Hauteur du plantule</i>	60.322	10.48**

$P \leq 0.01$

L/W : Leaf length:leaf width ratio / *Rapport longueur sur largeur de feuille.*

MSS : Mean sum of squares / *Somme des carrés moyens.*

Cluster I included progenies of 6 superior trees - 2 from Jagdalpur area of Madhya Pradesh and 4 from Sundergarh area of Orissa. There were 6 seedling progenies of superior trees (biotypes) in cluster II and 4 in each cluster III and IV. In cluster II all the biotypes are of different geographical regions comprising Jagdalpur and Dhamtari areas of Madhya Pradesh and Nowrangpur, Orissa. Cluster III had all the biotypes of a single geographic region, i.e. Sundargarh area of Orissa, whereas cluster IV had biotypes of different geographical regions, i.e. Nowrangpur, Sundargarh (Orissa), Dhamtari and Jagdalpur (MP). Clusters V, VI, VII and VIII comprised one biotype in each cluster, out of which two belonged to Sundergarh area of Orissa and the other two were of CTR & TI Farm, Ranchi.

The inter- and intra-cluster distances (D^2) among eight clusters presented in Table II revealed that the lowest intra-cluster distance was observed for cluster I ($D^2 = 1.784$) and maximum ($D^2 = 2.333$) for cluster IV. Clusters II and III also had low D^2 values (2.151 and 2.288 respectively), indicating that the biotypes were less diverse genetically.

Table II. Average inter- and intra-cluster distances.

Tableau II. Distances moyennes entre les groupes et à l'intérieur des groupes.

Cluster Groupe	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I	1.784	10.101	3.869	5.133	3.052	5.664	5.801	8.348
II		2.151	13.366	5.533	7.986	15.450	14.993	18.148
III			2.288	8.321	5.748	2.941	4.369	5.596
IV				2.333	3.331	10.379	10.148	13.094
V					0.000	7.876	8.122	10.700
VI						0.000	2.638	2.911
VII							0.000	3.798
VIII								0.000

The character means of cultivars/biotypes in the eight clusters are given in Table IV. Seedling height contributed maximum to divergence (88.04 %) whereas leaf length:leaf width ratio, leaf width and leaf length contributed 5.80, 3.62 and 2.54 per cent respectively. Out of 276 D^2 values, seedling height ranked first due to 243 times repeatability (Table V).

A close examination of the geographical origin of the genetic stocks included in the different clusters revealed that biotypes from the same region entered into different clusters.

The maximum inter-cluster D^2 values were observed between the clusters II and VIII ($D^2 = 18.148$) and minimum inter-cluster D^2 values were found between clusters VI and VII ($D^2 = 2.638$), suggesting a wide diversity between the populations.

DISCUSSION

The genetic architecture of a population is controlled by the breeding behaviour of the individuals. The changes in breeding systems have accelerated the genetic divergence in natural populations. Generally, geographic diversity has been considered as a measure of genetic diversity. The selection of desirable parents for a successful hybridization programme is of the most vulnerable but difficult task for a plant breeder.

The study of seedling characters in forest trees is of utmost value to assess the performance of superior trees (plus trees) to ensure the productivity and quality of desirable characters in future plantations. In case the plantation of forest trees is done without progeny trial, it may so happen that the plantations raised do not fulfill our requirements due to poor heritability and the long efforts, time and money go in vain. Further, evaluation of the genetic diversity and grouping of plus trees in different clusters will enable us to identify the number of genetically distinct biotypes actually involved in our studies.

The present investigation was, therefore, undertaken to evaluate the genetic diversity between and within the seedlings of 24 superior trees collected from different geographical regions.

The 24 superior biotypes (plus trees) have been subjected to multivariate analysis based on the measurement of 4 developmental characters related to half-sib seedlings of *T. arjuna*. It appears from Tables I and IV that the larger the magnitude of treatment MSS, the greater the differences in cluster means (which was maximum for seedling height and leaf length). This indicates that clusters are genetically distant, on the basis of the D^2 analysis the 24 plus trees fell in 8 clusters and a close

Table III. Source of origin of the 24 superior/plus trees.

Tableau III. Origine des 24 arbres supérieurs.

Cluster no.	Number of plus trees	Plus trees included	Origin
<i>Numéro du groupe</i>	<i>Nombre d'arbres supérieurs</i>	<i>Arbres supérieurs inclus</i>	<i>Origine</i>
I	6	N ₁	Raipur - Jadgalpur Road (MP)
		N ₄	-do-
		O ₂	Sundergarh (Orissa)
		S ₂	-do-
		S ₁	-do-
		B ₄	-do-
II	6	N ₂	Raipur - Jagdalpur Road (MP)
		Ds ₂	Dhamtari (MP)
		Ds ₄	-do-
		D	-do-
		N ₆	Umerkote (Orissa)
		Ds ₁	Dhamtari
III	4	B ₅	Sundergarh (Orissa)
		B ₆	-do-
		B ₁	-do-
		S ₃	-do-
IV	4	N ₅	Umerkote (Orissa)
		Ds ₃	Dhamtari (MP)
		B ₂	Sundergarh (Orissa)
		N ₃	Jadgalpur - Raipur road (MP)
V	1	O ₁	Sundergarh (Orissa)
VI	1	B ₃	-do-
VII	1	C ₁	CTR&TI, Farm, Ranchi (Bihar)
VIII	1	C ₂	-do-

N₁-N₆ : Identified by the Senior Research Officer of Nowrangpur / Identifié par le Directeur de Recherches de Nowrangpur. B₁-B₆ : Located at Bijlikhaman / Situé à Bijlikhaman. S₁-S₃ : Located at Samradihi / Situé à Samradihi. O₁-O₂ : Located at BSM&TC, Office. Situé au bureau de BSM&TC. D : Located at Dhamtari / Situé à Dhamtari. Ds₁-Ds₄ : Located at Dhamtari Sorgaon / Situé à Dhamtari Sorgaon. C₁-C₂ : Located at CTR&TI / Situé au Central Tasar Research and Training Institute.

Table IV. Cluster means for different characters.

Tableau IV. Moyennes des différents caractères dans chaque groupe.

Cluster	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	L/W	Seedling height (cm)
Groupe	Longueur de feuille (cm)	Largeur de feuille (cm)	L/W	Hauteur de la plantule (cm)
I	8.440	2.939	3.032	16.396
II	8.941	2.181	3.932	22.260
III	8.421	2.920	2.960	14.730
IV	8.820	2.533	3.619	19.561
V	10.066	3.087	2.617	15.610
VI	6.610	2.257	2.927	10.070
VII	5.443	1.470	3.783	11.156
VIII	5.540	2.840	2.207	7.453

L/W : Leaf length:width ratio / Rapport longueur sur largeur de feuille.

Table V. Independent character contribution towards divergence.

Tableau V. Contribution de chaque caractère à la divergence.

Characters	Ranked 1st	Contribution %
Caractères	Nombre de fois au rang I	Contribution (%)
Leaf length / Longueur de feuille	7	2.54
Leaf width / Largeur de feuille	10	3.62
L/W	16	5.80
Seedling height / Hauteur de la plantule	243	88.04

L/W : Leaf length:width ratio / Rapport longueur sur largeur de feuille.

Table VI. Canonical vectors of 24 superior (plus) trees.

Tableau VI. Vecteurs canoniques des 24 arbres supérieurs.

Superior (plus) trees <i>Arbres supérieurs</i>	Z ₁	Z ₂	Z ₃
B ₁	15.37	- 0.37	4.71
B ₂	23.31	- 0.15	5.23
B ₃	11.59	- 0.15	4.74
B ₄	17.39	- 0.08	6.43
B ₅	14.34	- 0.15	4.97
B ₆	15.04	- 0.18	5.86
O ₁	21.72	- 0.31	4.85
O ₂	19.55	- 0.18	6.23
S ₁	19.84	- 0.09	5.31
S ₂	19.22	- 0.24	5.14
S ₃	13.30	- 0.44	5.09
N ₁	18.26	- 0.27	6.52
N ₂	31.36	- 0.07	5.01
N ₃	24.07	- 0.22	7.12
N ₄	18.39	- 0.24	5.50
N ₅	25.69	- 0.16	5.24
N ₆	29.69	- 0.18	5.37
D	33.82	- 0.07	5.25
Ds ₁	32.29	- 0.32	4.27
Ds ₂	32.36	- 0.10	5.07
Ds ₃	27.22	- 0.24	4.54
Ds ₄	31.46	- 0.17	6.26
C ₁	12.49	- 0.12	4.28
C ₂	8.06	- 0.04	5.39

The sum of all canonical roots / *Somme de toutes les racines canoniques* : 801.5373

λ_1 : 762.3196, λ_2 : 27.9363, λ_3 : 7.1239.

Contribution of canonical vectors / *Contribution des vecteurs canoniques* :

Z₁ : 95.1071 %, Z₂ : 3.4853 %, Z₃ : 0.8888 %.

examination of the geographical origin of these genetic stocks included in 8 different clusters revealed that biotypes from the same region entered into different clusters.

The results thus suggested that the selection of parents (superior parents) for improvement programmes need not necessarily be based on geographical distance. The same results were advocated by Murty and Arunachalam (1966) and Singh and Gupta (1968). Contrary to this, Ram and Panwar (1970) and Vairvan *et al.* (1973) are of the opinion that geographical distribution and genetic diversity are related and concluded that ecogeographically cultivars also differ genetically from each other and the genetic diversity must form the second base for selection. The intra-cluster distances have been observed to be zero for clusters V, VI, VII and VIII as they included only a single genotype in each. Intra-cluster D^2 value is found to be maximum in cluster IV (2.333) while the minimum was recorded in cluster I (1.784).

Inter-cluster distance was found to be lowest (2.638) between clusters VI and VII, suggesting a close relationship. Cluster III is very close to cluster VI (2.941). The maximum distance of 18.148 was recorded between clusters II and VIII, indicating a wide diversity.

A canonical analysis was carried out following the procedure suggested by Rao (1952). The canonical vectors corresponding to the three largest roots (λ_1 , λ_2 and λ_3) supplied the three best orthogonal vectors Z_1 , Z_2 and Z_3 (Table VI). Around 95.11 per cent of the total variability was accounted for by the first and nearly 99.5 per cent by the first three vectors. Thus the canonical analysis also confirms the existence of a substantial genetic divergence.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Director, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, for providing facilities and Mr H.C. Mahapatra, Mr B.R.R.Pd. Sinha and Mr D. Chakravorty for their co-operation during the course of the present investigation.

REFERENCES

- ANDERSON T.W. (1959) Introduction to multivariate statistical analysis. John Wiley and Sons, New York.
- CHOPRA R.N., CHOPRA I.C., VERMA B.S. (1974) Supplement to glossary of Indian medicinal plants. Publication and Information Directorate, New Delhi.
- MAHALANOBIS P.C. (1936) On the generalized distance in statistics. *Proc. Nat. Ins. Sci., India*, 2, 49-55.
- MURTY B.R., ARUNACHALAM V. (1966) The nature of genetic divergence in relation to breeding system in crop plants. *Indian J. Genet.*, 26A, 188-198.
- RAM J., PANWAR D.V.S. (1970) Interspecific divergence in rice. *Indian J. Genet.*, 30, 1-10.
- RAO C.R. (1952) Advanced statistical methods in biometrical research. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 390.
- SINGH R.B., GUPTA M.P. (1968) Multivariate analysis of divergence in upland cotton. *Indian J. Genet.*, 28, 151-157.
- SINGH U., WADHWANI A.M., JOHRI B.M. (1983) Dictionary of economic plants in India. ICAR, New Delhi.
- VAIRVAN S.E., SIDDIQ E.A., ARUNACHALAM V., SWAMINATHAN M.S. (1973) A study on the nature of genetic divergence in rice from Assam and North-East Himalayas. *Theor. Appl. Genet.*, 43, 213-221.

DIVERSITE GENETIQUE CHEZ DES PLANTULES PARENTES DE *TERMINALIA ARJUNA* BEDD.

P.K. SRIVASTAV, A.A. SIDDIQUI & A.K. GOEL

Plant Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi - 835 303, Inde.

L'analyse multivariée de la divergence pour trois caractères foliaires chez des plantules obtenus par semis à partir de 24 arbres supérieurs de Terminalia arjuna permet de répartir ces 24 arbres supérieurs (biotypes) en 8 groupes. Les groupes I et II comportent 6 arbres, les groupes III et IV en comptent quatre, tandis que les groupes V à VIII en comptent 1 chacun, ce qui suggère que ces quatre derniers biotypes présentent la plus grande divergence par rapport aux autres. On observe que la hauteur de la plantule, le rapport longueur sur largeur de feuille, la largeur et la longueur de la feuille contribuent respectivement pour 88,04, 5,8, 3,62 et 2,54 % à la divergence. Les valeurs de D^2 entre les groupes varient de 2,638 à 18,148, ce qui indique une divergence importante entre les populations. L'analyse canonique confirme également la diversité génétique mesurée à l'aide de la méthode statistique D^2 .

INTRODUCTION

Terminalia arjuna, une plante communément reconnue dans l'industrie séricicole tasar comme étant la meilleure plante nourricière du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D., est également utilisé dans l'industrie pharmaceutique, dans l'industrie forestière, la tannerie et la maroquinerie (Chopra et coll., 1974 ; Singh et coll., 1983). En raison d'une exploitation limitée aux Etats tropicaux et sub-tropicaux, la production de soie tasar rapporte 90 millions de roupies en devises à l'Inde, le plus grand producteur de soie tasar sur le marché international. Les raisons de ce faible rendement pourraient être attribuées à l'absence de variétés de plantes nourricières à haut rendement ayant un feuillage de qualité car la majeure partie de la production tasar provient de forêts où les élevages sont réalisés sur des populations hétérogènes de *Terminalia tomentosa* ou de *T. arjuna* cultivées dans le cadre du Projet Inter-Etats Tasar, d'où une perte d'énergie.

Afin de disposer d'un programme extensif de sélection basée sur le rendement, la qualité des feuilles et la réaction aux apports d'énergie, il est essentiel de connaître la diversité génétique des cultures. Cette étude vise à obtenir des informations sur la divergence génétique entre des plantules obtenues par semis à partir de 24 arbres supérieurs, leur corrélation avec leur environnement géographique et/ou écologique et l'identification des groupes parentaux susceptibles de produire des ségréants supérieurs dans les croisements sur la base de la hauteur de la plantule et de trois caractères foliaires.

MATERIELS ET METHODES

Vingt-quatre arbres supérieurs ont été sélectionnés et marqués dans les forêts des Etats du Madhya Pradesh, d'Orissa et du Bihar (Tableau III). Les graines de ces arbres supérieurs ont germé suivant la technique standard de culture en pépinière. Les graines germées ont été semées dans des tubes en polyéthylène contenant un milieu uniforme de racinement composé de fumier, de terreau et de sable à raison de 3:2:1. Pour chacun des arbres supérieurs, les progénitures ont été réparties en trois

réplicats considérés comme des traitements différents de 50 plantules. La germination a débuté le 4 juillet 1987 et s'est terminée le 8 juillet 1987, les données concernant la longueur et la largeur de la feuille, le rapport longueur sur largeur de feuille et la hauteur de la plantule ayant relevées entre le 4 et le 5 septembre 1987. L'analyse canonique et la distance généralisée de Mahalanobis (1936) ont été utilisées pour évaluer la divergence génétique entre les populations. La transformation des variables corrélées en variables non corrélées et le regroupement selon Tocher ont été réalisés d'après la méthode de Rao (1952). L'analyse canonique a été réalisée suivant la méthode d'Anderson (1959).

RESULTATS

L'analyse de variance des quatre caractères chez les plantules révèle des différences significatives entre les différentes progénitures des arbres supérieurs (Tableau I). La variation est maximale pour le rapport longueur sur largeur de feuille, puis pour la hauteur de la plantule et la largeur de la feuille. La longueur de la feuille présente les différences les plus faibles. Après évaluation des valeurs individuelles de D^2 , les progénitures des arbres supérieurs ont été réparties en 8 groupes (Tableau II). Les valeurs de D^2 entre les plantules issues des arbres sélectionnés (biotypes) sont plus faibles à l'intérieur d'un même groupe qu'entre deux groupes donnés. Le regroupement basé sur la méthode statistique D^2 de Mahalanobis ne correspond pas à l'origine géographique des génotypes (Tableau III).

Le groupe I comprend les progénitures de 6 arbres supérieurs : 2 de la région de Jagdalpur dans le Madhya Pradesh et 4 de la région de Sundergarh dans l'Orissa. Le groupe II comprend les plantules issues de 6 autres arbres (biotypes) et les groupes III et IV en comprennent chacun 4. Dans le groupe II, tous les biotypes proviennent de zones géographiques différentes comprenant les régions de Jagdalpur et Dhamtari de Madhya Pradesh et de Nowrangpur, Orissa. Le groupe III est composé de tous les biotypes de la même région géographique, à savoir la région de Sundargarh d'Orissa, tandis que le groupe IV comprend des biotypes de différentes régions géographiques : Nowrangpur, Sundargarh (Orissa), Dhamtari et Jagdalpur (MP). Les groupes V, VI, VII et VIII comprennent chacun un biotype, dont deux proviennent de la région de Sundergarh d'Orissa et les deux autres de l'exploitation du CTR & TI Ranchi.

Les distances entre les groupes et à l'intérieur d'un groupe (D^2) présentées dans le tableau II révèlent que la distance la plus faible apparaît chez le groupe I ($D^2 = 1,784$) et la distance maximale ($D^2 = 2,333$) chez le groupe IV. Les groupes II et III ont également des valeurs de D^2 faibles (respectivement 2,151 et 2,288), ce qui indique que les biotypes divergent moins génétiquement.

Les moyennes des caractères des cultivars/biotypes chez les huit groupes sont présentées dans le tableau IV. La contribution maximale (88,04 %) à la divergence est produite par la hauteur de la plantule tandis que le rapport longueur sur largeur de feuille, la longueur et la largeur de la feuille ont respectivement une contribution de 5,80, 3,62 et 2,54. Sur les 276 valeurs de D^2 , celle de la hauteur du plant se place en première position en raison d'une répétabilité de 243 fois (Tableau V).

Un examen détaillé de l'origine géographique des stocks génétiques inclus dans les différents groupes révèle que les biotypes d'une même région sont placés dans des groupes différents.

Pour ce qui est des valeurs de D^2 entre les groupes, les groupes II et VIII ($D^2 = 18,148$) présentent la valeur maximale et les groupes VI et VII la valeur minimale ($D^2 = 1,638$), ce qui suggère une variabilité importante entre ces populations.

DISCUSSION

La structure génétique d'une population est gouvernée par le comportement des individus à la sélection. Les modifications du système de sélection ont accéléré la divergence génétique chez les populations naturelles. En général, la diversité géographique constitue un moyen de mesure de la diversité génétique. La sélection de parents désirés en vue d'établir un programme d'hybridation probant est une tâche extrêmement difficile pour un cultivateur chargé de sélectionner des plants.

L'étude des caractères des plantules dans les régions forestières est essentielle pour évaluer la performance des arbres supérieurs et garantir l'obtention d'une bonne productivité et d'une bonne qualité des caractères souhaités dans les plantations futures. Lorsque la plantation d'arbres forestiers

se fait sans test sur la progéniture, il se peut que les plantations établies ne répondent pas aux besoins en raison d'une faible hérédité, rendant vains les efforts, le temps et l'argent investis. De plus, l'évaluation de la diversité génétique et la répartition des arbres supérieurs dans différents groupes nous permettra d'identifier le nombre de biotypes génétiquement distincts réellement utilisés dans notre étude.

Cette expérience a donc été entreprise afin d'évaluer la diversité génétique entre et à l'intérieur des groupes de plantules obtenus à partir de 24 arbres supérieurs dont les graines ont été prélevées dans différentes régions géographiques.

Les 24 biotypes supérieurs (arbres plus) ont été soumis à une analyse multivariée basée sur la mesure de quatre caractères du développement chez des plantules parentes de *T. arjuna*. A la lecture des tableaux I et IV, il apparaît que les différences entre les moyennes (différence maximale pour la hauteur de la plantule et la longueur de la feuille) des groupes sont d'autant plus fortes que l'amplitude de la somme des carrés moyens est grande ; ceci indique que les groupes sont éloignés génétiquement. L'analyse de D^2 permet de répartir les 24 arbres supérieurs en 8 groupes ; l'étude détaillée de l'origine géographique de ces stocks génétiques contenus dans ces 8 groupes révèle que les biotypes d'une même région entrent dans différents groupes.

Ces résultats suggèrent que la sélection des parents (parents supérieurs) dans les programmes d'amélioration ne doit pas être nécessairement basée sur la distance géographique. Des résultats identiques ont été établis par Murty et Arunachalam (1966) et Singh et Gupta (1968). Par contre, Ram et Panwar (1970) et Vairvan et coll. (1973) estiment que la distribution géographique et la diversité génétique sont liées et concluent que les cultivars différents éco-géographiquement diffèrent également génétiquement entre eux et qu'il faut considérer la diversité génétique comme base secondaire de sélection. Les distances intergroupes sont de 0 pour les groupes V, VI, VII et VIII, puisqu'ils ne comprennent qu'un seul génotype chacun. La valeur de D^2 à l'intérieur des groupes est maximale pour le groupe IV (2,333) et minimale pour le groupe I (1,784).

La distance entre groupes est minimale (2,638) entre les groupes VI et VII, indiquant qu'ils sont étroitement liés. Le groupe III est très proche du groupe VI (2,941). On enregistre une différence maximale de 18,148 entre les groupes II et VIII, indiquant qu'ils sont très divergents.

Une analyse canonique a été effectuée suivant la méthode proposée par Rao (1952). Les vecteurs canoniques correspondant aux trois racines les plus grandes (λ_1 , λ_2 et λ_3) produisent les trois meilleurs vecteurs orthogonaux : Z_1 , Z_2 et Z_3 (Tableau VI). Environ 95,11 % de la variabilité totale peuvent être attribués au premier et 99,5 % aux trois premiers vecteurs. L'analyse canonique confirme donc l'existence d'une divergence génétique importante.

EFFECT OF TWIST ON THE DYNAMOMETRIC PROPERTIES OF RAW SILK YARNS

T.N. SONWALKAR, S. ROY & B.V. VASUMATHI

Central Silk Technological Research Institute, B.T.M. Layout, Madiwala, Bangalore - 560 068, India.

Multivoltine raw silk of 20/22 denier was twisted singles, 2-ply and 3-ply in the range of 400 to 3,300 TPM. The dynamometric properties, namely tenacity, elongation, initial modulus and yield stress, have been studied. From the overall study, it was observed that twist had less impact in the case of a single twisted yarn, while it significantly affected all the above-mentioned dynamometric characters in the case of 2-ply and 3-ply twisted yarns.

Keywords : Cleanness, cohesion, denier, doubling, elongation, evenness, F-E curve, initial modulus, multiend reeling machine, multivoltine, ply, raw silk, steaming, strain, tenacity, twists per metre, uptwister, yield stress.

INTRODUCTION

The effect of twist on the strength and elasticity of silk yarns, a question of importance to practically all branches of silk trade that use nett silk yarns has not received the attention it merits (Howitt, 1946).

Davis examined the effect on strength and elongation of twisting hosiery yarns up to 10 TPI but neglected the more significant effect of higher twists (Howitt, 1946).

There are not many references available with regard to the effect of twist on dynamometric properties of silk yarn.

As cohesion of Indian silk is poor (Sonwalkar, 1984), the use of tram twisted yarn of 10 to 25 TPI as warp is a common practice in handloom and powerloom sector. Again for crepe yarn, the popular twist range used is 2700 to 2800 TPM. As there is no adequate reference available, the trade practice is continued without any scientific guideline. Therefore a study has been made in depth to evaluate the effect of twist on tenacity, elongation, initial modulus and yield stress in respect of multivoltine raw silk.

MATERIALS AND METHODS

Multivoltine raw silk reeled on a multiend reeling machine was taken for the study. The cocoons were reeled carefully with all necessary in-process control to achieve uniform yarn of a popular denier, namely 20/22 d, and to avoid weak places which could occur due to cleanness and evenness defect or a high degree of size deviation. Before twisting, the yarn was tested for quality characteristics to ensure the use of uniform quality yarn required for the study.

The raw silk was doubled into two-ply and three-ply on a Japanese doubling machine with a uniform tension. Then the single, two-ply and three-ply yarns were twisted on an uptwister in the range of 400, 800, 1200, 1600, 2000, 2600 and 3300 TPM in each case. The twisted yarn was steamed (vapour) for a duration of about 30-60 minutes depending on the twist range, in order to set the twist.

The steam set yarns were dried at room temperature and conditioned at standard atmospheric conditions.

The yarns were tested on INTRON tensile strength testing machine (model 6021). The full-scale range of load and elongation chosen were 120 to 150 g and 250 mm, respectively. The cross head speed and the test length were 0.83 mm/min. and 100 mm, respectively. Total 100 samples in each twist range were tested from different parts of the bobbins and the peak value for tenacity and elongation were assessed. The mean initial modulus and yield stress were also measured from the characteristic F-E curves of 100 readings in each twist range. The mean tenacity, elongation, initial modulus and yield stress were plotted against TPM and are given in Fig. 1 to 4. The test results are given in Table I.

All the tests were conducted at standard atmospheric conditions, i.e. $27 \pm 2^\circ\text{C}$ and $65 \pm 2\%$ relative humidity.

Table I. / *Tableau I.*

TPM	Tenacity (N/Text)	CV (%)	Elongation (%)	CV (%)	Initial modulus (N/Text)	CV (%)	Yield stress (N/Text)	CV (%)
<i>TPM</i>	<i>Ténacité (N/Text)</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Allongement (%)</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Module initial (N/Text)</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Force à la rupture (N/Text)</i>	<i>CV (%)</i>
<i>Singles / Fils simples</i>								
400	0.33	9.6	22.0	11.5	7.94	5.4	0.16	5.0
800	0.33	6.7	22.7	8.8	8.22	8.2	0.16	3.8
1200	0.34	6.4	23.0	9.4	8.72	6.8	0.19	3.4
1600	0.34	7.5	21.3	8.6	8.63	7.0	0.18	4.0
2000	0.34	4.8	21.3	8.3	8.63	4.8	0.17	3.4
2600	0.33	4.4	21.1	8.4	7.88	4.1	0.17	4.1
3300	0.29	6.9	20.3	8.2	7.66	7.3	0.15	6.6
<i>2-ply / Fils doubles</i>								
400	0.33	4.8	20.8	8.7	8.22	6.2	0.18	4.6
800	0.33	5.1	21.2	17.5	8.43	7.5	0.17	3.5
1200	0.34	7.7	20.9	13.7	8.41	7.3	0.17	4.6
1600	0.33	12.6	13.4	15.2	6.81	10.6	0.16	3.8
2000	0.30	5.1	20.4	17.5	6.27	9.9	0.14	4.9
2600	0.26	7.7	17.5	13.7	6.16	10.1	0.13	5.5
3300	0.18	12.6	13.4	15.2	5.77	12.5	0.11	6.4
<i>3-ply / Fils triples</i>								
400	0.34	4.1	21.4	7.2	8.75	6.4	0.18	4.5
800	0.35	4.6	22.7	8.2	7.61	9.1	0.18	4.6
1200	0.33	4.6	22.0	8.3	6.66	7.8	0.17	4.2
1600	0.29	7.3	20.6	14.3	5.94	11.6	0.16	4.9
2000	0.27	7.6	19.0	13.8	4.86	14.8	0.14	5.0
2600	0.19	14.7	14.2	20.1	4.50	13.8	0.10	6.6
3300	0.15	22.1	13.0	23.4	4.40	15.9	0.08	8.7

TPM : Twists per metre / *Tours par mètre.*

N/Text : Newtons per tex / *Newtons par tex.*

CV : Co-efficient of variation / *Coefficient de variation.*

RESULTS AND DISCUSSION

From the test results, it was observed that in the case of the single twisted yarn the peak value of tenacity, elongation, initial modulus and yield stress were 0.359 N/Tex, 22.97 %, 8.8 N/Tex and 0.18 N/Tex, respectively, at 1200 TPM. It is interesting to note that there is no conspicuous change in the tenacity, elongation, initial modulus and yield stress up to a considerable range of twist of 2600 TPM.

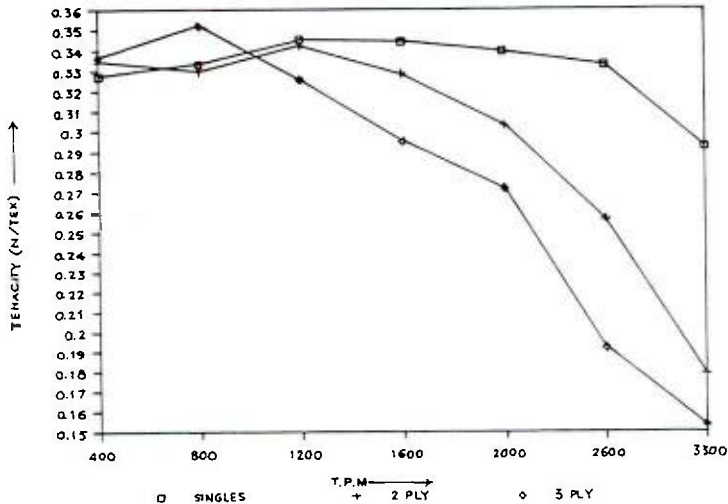


Fig. 1 : Variation of tenacity.

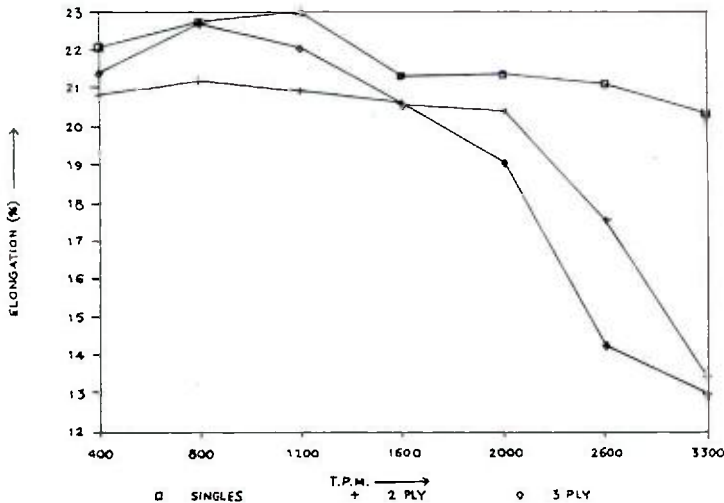
Fig. 1 : Variation de la ténacité.

Fig. 2 : Variation of elongation.

Fig. 2 : Variation de l'allongement.

In the case of two-ply twisted yarn the tenacity, initial modulus and yield stress were affected after 1200 TPM. The elongation showed a steady fall from the range of 2000 TPM. The loss of tenacity and initial modulus were found to be 48.85 % and 31.6 %, respectively, at 3300 TPM as compared to their peak values. The loss of elongation and yield stress were observed to be 33.2 % and 40.2 %, respectively, at the range of 3300 TPM as compared to their peak values.

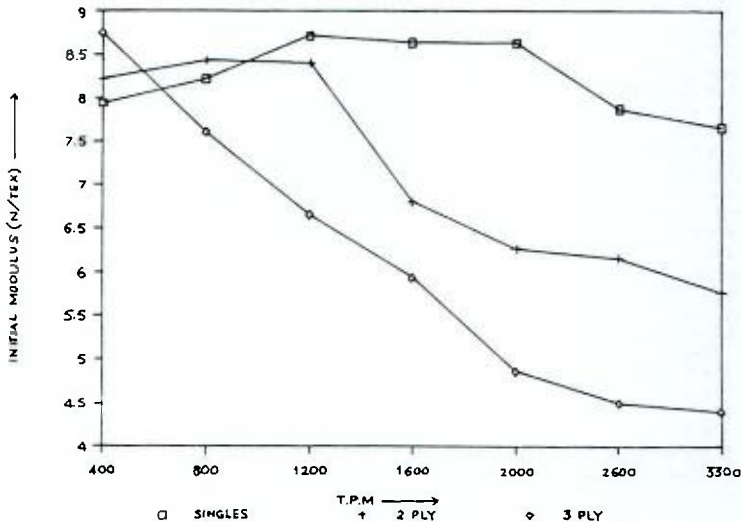


Fig. 3 : Variation of initial modulus.

Fig. 3 : Variation du module initial.

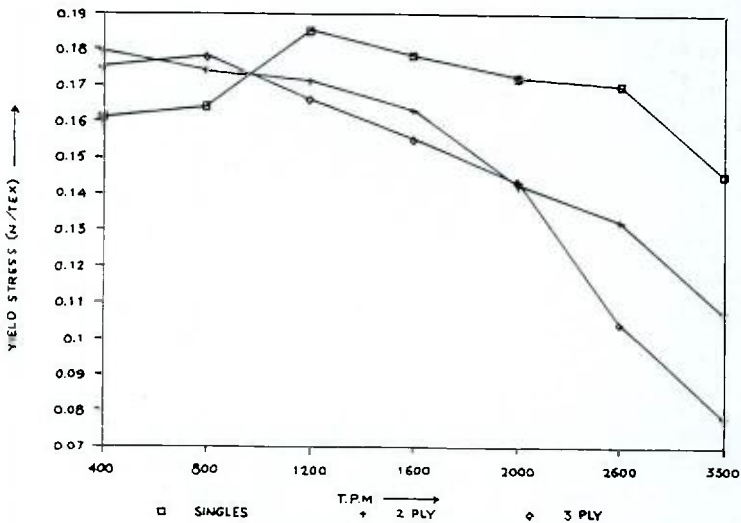


Fig. 4 : Variation of yield stress.

Fig. 4 : Variation de la force à la rupture.

In the case of 3-ply twisted yarn the tenacity started decreasing after 1200 TPM and a drastic fall was observed thereafter. Whereas the initial modulus showed a steady fall after 400 TPM. The losses of tenacity and initial modulus were found to be 66.83 % and 50.28 %, respectively, at 3300 TPM as compared to their peak values. The elongation and yield stress were affected greatly as TPM increased and the losses of which were found to be 42 % and 55.42 %, respectively, at 3300 TPM as compared to their peak values.

It was also observed that as the number of plies increased, the tenacity, elongation, yield stress and initial modulus were affected more with the increase of TPM.

It is generally believed that twist adds strength to the yarn up to a certain limit, beyond which, if it is twisted, the strength decreases. But in the case of single twisted yarn, this phenomenon was not conspicuous. One of the possible reasons might be that, in the undegummed state, the individual filaments are cemented together, which prevents the relative movement of the filaments around the yarn axis and therefore no significant increase in the strength upon twisting in the initial stage was observed.

Secondly, singles, being finer as compared to two-ply and three-ply, can take up a wider range of twists without affecting its strength and can withstand higher loads as compared to coarser deniers (i.e. 2-ply and 3-ply). At the same twist range, single yarn will have proportionally a lower twist angle than 2-ply and 3-ply yarns which in turn produce comparatively lower shear strain in singles as compared to 2-ply and 3-ply at a higher range of twist. This might be one of the reasons for the absence of a drastic fall in strength at higher twist ranges (2600 TPM) as compared to 2-ply and 3-ply.

CONCLUSION

From the overall study it may be summarised that twist has less impact on tenacity, elongation, initial modulus and yield stress in the case of single-twisted yarns of 20/22d up to 2600 TPM. Whereas in the case of two-ply and three-ply twisted silk yarn, all the above characters are affected considerably and the variation is conspicuous beyond the range of 1200 TPM.

However, it must not be thought that yarns are always twisted to give the optimum strength, the yarn properties must be controlled to suit the intended end use of the yarn (Booth, 1983).

REFERENCES

- BOOTH J.E. (1983) Principles of textile testing. Butterworth Scientific, London, 3rd Edition.
 HOWITT F.O. (1946) Bibliography of the technical literature on silk. Hutchison's Scientific and Technical Publication, London.
 KLEIN W. (1987) Short staple spinning series. The Textile Institute, Manchester.
 SONWALKAR T.N. (1974) Importance of raw silk testing and grading. *Indian Silk*, 13(2), 17-20.

EFFET DE LA TORSION SUR LES PROPRIETES DYNAMOMETRIQUES DES FILS DE SOIE GREGE

T.N. SONWALKAR, S. ROY & B.V. VASUMATHI

Central Silk Technological Research Institute, B.T.M. Layout, Madiwala, Bangalore - 560 068, Inde.

Des fils simples, doubles et triples de soie grège polyvoltine de 20/22 denier ont subi des torsions de 400 à 3 300 tours par mètre. Les propriétés dynamométriques, à savoir : la ténacité, l'allongement, le module initial et la force à la rupture, ont été étudiées. L'étude globale révèle que la torsion a moins d'impact sur le fil ouvré simple, mais elle affecte de manière significative toutes les propriétés dynamométriques énoncées ci-dessus dans le cas des fils ouverts doubles et triples.

INTRODUCTION

L'effet de la torsion sur la résistance et l'élasticité des fils de soie, problème important pour la plupart des secteurs du traitement de la soie utilisant des fils de soie nets, n'a pas reçu toute l'attention souhaitée (Howitt, 1946).

Davis a examiné l'effet sur la résistance et l'allongement de la torsion des fils de bonneterie jusqu'à 10 tours par pouce mais a négligé les effets plus significatifs des torsions supérieures (Howitt, 1946).

On dispose de peu de références pour ce qui concerne l'effet de la torsion sur les propriétés dynamométriques du fil de soie.

La cohésion de la soie indienne étant médiocre (Sonwalkar, 1984), il est courant d'utiliser du fil de trame ouvré soumis à environ 10 à 25 tours par pouce comme fil de chaîne sur les métiers à mains et sur les métiers mécaniques. De même, pour le fil de crêpe, on utilise habituellement des fils ayant subi entre 2 700 et 2 800 tours par mètre. Comme il n'existe aucune référence à ce sujet et en l'absence de directives scientifiques, cette pratique commerciale est maintenue. On a donc réalisé l'étude approfondie de l'effet de la torsion sur la ténacité, l'allongement, le module initial et la force à la rupture de la soie grège polyvoltine.

MATERIELS ET METHODES

Pour cette étude, on a choisi de la soie grège polyvoltine dévidée sur une bassine multi-bouts. Les cocons ont été dévidés soigneusement et contrôlés à chaque étape pour obtenir un fil uniforme d'un denier couramment employé, à savoir 20/22 d, et en évitant les points faibles qui pourraient survenir du fait de défauts de propreté ou de régularité ou d'un degré élevé de déviation du titre. Avant la torsion, le fil est testé afin d'évaluer ses caractéristiques qualitatives et pour s'assurer que le fil utilisé dans cette étude est de qualité uniforme.

La soie grège est assemblée en fil double et triple sur une machine à assembler japonaise à tension uniforme. Les fils simples, doubles et triples sont ensuite tordus sur un moulin à raison de 400, 800, 1 200, 1 600, 2 000, 2 600 et 3 300 tours par mètre dans chaque cas. Le fil ouvré est ensuite soumis à la vapeur pendant environ 30 à 60 minutes suivant le nombre de torsions afin de fixer les torsions. Les fils fixés à la vapeur sont séchés à température ambiante et conditionnés en milieu atmosphérique standard.

Les fils sont testés sur une machine de mesure de la limite élastique à la traction INTRON (modèle 6021). La fourchette totale de chargement et l'allongement sélectionnés sont respectivement de 120 à 250 et 50 mm. La vitesse du piston et la durée du test sont respectivement de 0,83 mm/min et 100 mm. Au total, 100 échantillons pour chacun des lots sont testés à différents endroits de la bobine et les valeurs pics pour la ténacité et l'allongement sont évaluées. On mesure également le module initial et la force à la rupture moyens de 100 lectures pour chaque nombre de torsions sur les courbes F-E des caractéristiques. Les courbes de ténacité, d'allongement, de module initial et de force à la rupture moyens ont été tracées en fonction du nombre de torsions par mètre (Fig. 1 à 4). Les résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau I.

Tous les tests ont été effectués dans des conditions atmosphériques standards (température : 27 ± 2 °C, humidité relative : 65 ± 2 %).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats expérimentaux révèlent que, dans le cas du fil simple, les valeurs pics pour la ténacité, l'allongement, le module initial et la force à la rupture sont respectivement de 0,359 N/Tex, 22,97 %, 8,8 N/Tex et 0,18 N/Tex à 1 200 tours par mètre. Il est intéressant de noter qu'il n'y a aucune modification apparente de ces caractères jusqu'à 2 600 tours par mètre.

Dans le cas du fil double, la ténacité, le module initial et la force à la rupture sont affectés après 1 200 tours par mètre. L'allongement diminue régulièrement à partir de 2 000 tours par mètre. La perte est de 48,85 % pour la ténacité et de 31,6 % pour le module initial à 3 300 tours par mètre par rapport à leurs valeurs pics. A 3 300 tours par mètre, la perte par rapport aux valeurs pics est de 33,2 % pour l'allongement et de 40,2 % pour la force à la rupture.

Dans le cas du fil triple, la ténacité commence à diminuer après 1 200 tours par mètre et on observe une chute prononcée au-delà de ce nombre de torsions, tandis que le module initial diminue régulièrement après 400 tours par mètre. A 3 300 tours par mètre, la perte par rapport aux valeurs pics est de 66,83 % pour la ténacité et de 50,28 % pour le module initial. L'allongement et la force à la rupture sont fortement affectés à mesure que le nombre de torsions augmente et, à 3 300 tours par mètre, la perte par rapport aux valeurs pics est de 42 % pour l'allongement et de 55,42 % pour la force à la rupture.

On a également observé que la ténacité, l'allongement, la force à la rupture et le module initial sont d'autant plus affectés par le nombre de tours par mètre que le nombre de brins augmente.

Il est généralement admis que la torsion rend le fil plus résistant jusqu'à une certaine limite, au-delà de laquelle cette résistance diminue si on poursuit la torsion. Cependant, ce phénomène n'est pas apparent dans le cas du fil simple. L'une des explications possibles pourrait être que, avant le décreusage, les filaments individuels sont agglomérés, ce qui limite le déplacement relatif des fils autour de l'axe du fil, c'est pourquoi on n'a observé aucune augmentation significative de la résistance à la suite de la torsion au stade initial.

En deuxième lieu, les fils simples étant plus fins que les fils doubles et triples, ils peuvent tolérer un plus grand nombre de torsions sans que cela affecte leur résistance et peuvent supporter des chargements plus élevés que les gros fils (c'est-à-dire les fils doubles ou triples). Pour un même nombre de torsions, les fils simples auront un angle de torsion plus faible que les fils doubles et triples et produiront à leur tour une plus faible déformation à la traction en simples que les fils doubles et triples soumis à un plus grand nombre de torsions. Ceci pourrait en partie expliquer l'absence d'une chute prononcée de la résistance lorsque le fil simple est soumis à des torsions élevées (2 600 tours par mètre).

CONCLUSION

L'étude globale permet de conclure que la torsion a moins d'impact sur la ténacité, l'allongement, le module initial et la force à la rupture dans le cas des fils simples de 20/22 d jusqu'à 2 600 tours par mètre. Toutefois, dans le cas des fils doubles et triples, tous ces caractères sont fortement affectés et la variation est évidente au-delà de 1 200 tours par mètre.

Cependant, les fils ne sont pas nécessairement tordus pour obtenir une résistance optimale, les propriétés du fil doivent être maîtrisées pour que celui-ci corresponde à l'utilisation finale recherchée (Booth, 1983).

FIELD STUDIES ON THE INCIDENCE OF UZIFLY INFESTATION IN RELATION TO DIFFERENT LARVAL STAGES OF THE SILKWORM

PRADIP KUMAR & K. SENGUPTA

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

Keywords : Silkworm, uzifly, Tachinidae, parasitisation.

Occurrence of the uzifly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) in the sericulture tract of South India has been reported since 1980 (Jolly and Kumar, 1985). Serious damage to silkworm crops caused by uzifly infestation has also been reported (Kumar and Jolly, 1986a, Kumar *et al.*, 1987). However, no systematic field studies have been carried out in the sericulture tract of India to obtain information on the incidence of uzifly infestation at different larval stages.

Three villages, namely Puttengowdanahalli, Chattanahalli and Chatanpalya, located in Mysore District and situated within 1 km radius of Puttengowdanahalli village, were visited periodically from October 1984 to September 1985. The silkworm rearing conducted by the farmers were subjected to random sampling. Five hundred randomly selected larvae of each rearing batch of an individual farmer were examined at the rate of 100 larvae from each rearing tray kept at different heights. Larval infestation was recorded based on the number of silkworm larvae bearing scars caused by penetration of the integument of the host body by newly emerged maggots from the eggs of uziflies laid on the body of silkworms (Kumar and Jolly, 1986b). All the five stages of silkworm larvae were examined once in a month, one day prior to settling for moult. A total of 600 different rearing batches were examined throughout the period of survey comprising three seasons, namely winter (October-January), summer (February-May) and rainy season (June-September). Accrued data ($\pm$ SD) are compiled to establish the relationship, if any, between the host age (instarwise) and seasonal incidence of uzifly infestation.

The data obtained indicate that both the season and the age of the larvae influence the level of uzifly infestation. This is evident from the fact that the maximum infestation, irrespective of the age of the silkworm larvae, is recorded in the rainy season (16.87 ± 6.07 %), followed by winter (14.33 ± 5.66 %) and the least in the summer season (7.13 ± 2.79 %). The pattern of the seasonal incidence obtained in the present observation is in agreement with earlier work (Kumar and Jolly, 1986a ; Kumar *et al.*, 1987).

As regards the relationship between the host age and the incidence of uzi infestation it was observed that first and second instar host larvae were free from infestation in all the seasons. A minimum of 0.22 ± 0.12 % (winter), 0.07 ± 0.08 % (summer) and 0.33 ± 0.13 % (rainy) uzi infestation was recorded in the third instar. This infestation increased to 2.87 ± 1.31 %, 1.08 ± 0.10 % and 3.74 ± 2.95 % in the fourth instar and further increased to 11.24 ± 5.26 %, 5.98 ± 3.02 % and 12.80 ± 5.95 % in the 5th instar during winter, summer and rainy season respectively. It can, therefore, be concluded that the increase in the incidence of uzi fly infestation takes place with the increase in the age of the host larvae beyond the second stage onwards. This finding is partly in agreement with the previous record in a congeneric species, *Exorista mella* (Adam and Watson, 1971), and the

tachinid, *Winthemia menducae* (DeLoach and Rabb, 1971). Further, each host larva was found bearing 2-3 scars indicating the development of 2-3 maggots of uzifly on each host larva.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Sri Suresh S. Kumar, Sri P.J. Mathew and Sri B. Krishnan of this laboratory for their assistance during the present investigation.

REFERENCES

- ADAM D.S., WATSON T.F. (1971) Adult biology of *Exorista mella*. Ann. Entomol. Soc. Am., 64, 146-149.
- DELOACH C.J., RABB R.L. (1971) Life history of *Winthemia manducae* (Diptera : Tachinidae), a parasite of the tobacco hornworm. Ann. Entomol. Soc. Am., 64, 399-409.
- JOLLY M.S., KUMAR PRADIP (1985) A three pronged approach to control uzi fly. Indian Silk, 23, 5-9.
- KUMAR PRADIP, JOLLY M.S. (1986a) Studies on the ovipositional preference of uzifly, *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera : Tachinidae). Indian J. Seric., 25, 64-68.
- KUMAR PRADIP, JOLLY M.S. (1986b) Seasonal effect on certain developmental stages of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera : Tachinidae). Proc. Indian Acad. Sci., 95(5), 561-566.
- KUMAR PRADIP, JOLLY M.S., SINHA S.S., SAMSON M.V., REMADEVI O.K. (1987) Physical control of uzifly, *Tricholyga bombycis* Beck, and its impact on population. Indian J. Seric., 26(1), 5-7.

ETUDES SUR LE TERRAIN DE L'INCIDENCE DE L'INFESTATION PAR LA MOUCHE UZI EN FONCTION DES DIFFERENTS STADES LARVAIRES DU VER A SOIE

PRADIP KUMAR & K. SENGUPTA

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

La présence de la mouche uzi *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) dans les zones séricicoles d'Inde a été établie en 1980 (Jolly et Kumar, 1985). On a également observé des dommages considérables dans les élevages de ver à soie du fait de cette infestation (Kumar et Jolly, 1986a, Kumar et coll., 1987). Cependant, aucune étude systématique sur le terrain n'a été réalisée dans les zones séricicoles d'Inde afin de réunir des informations sur l'incidence de l'infestation par la mouche uzi aux différents stades larvaires.

Trois villages, à savoir Puttengowdanahalli, Chattanahalli et Chatanpalya, situés dans le district de Mysore et dans un rayon de 1 km du village de Puttengowdanahalli, ont été visités régulièrement d'octobre 1984 à septembre 1985. Les élevages de vers à soie des fermiers ont été soumis à l'échantillonnage aléatoire. Cinq cents larves prélevées au hasard dans chaque lot d'élevage d'une ferme ont été examinées à raison de 100 larves par litière maintenue à différentes hauteurs. L'infestation larvaire est enregistrée en fonction du nombre de larves de vers à soie portant une cicatrice sur leur tégument causée par la pénétration des asticots éclos des oeufs de mouches uzi pondus sur les larves (Kumar et Jolly, 1986b). Les larves de vers à soie sont examinées à chacun des cinq stades une fois par mois avant la mue. Un total de 600 lots d'élevages différents ont été examinés pendant toute la durée de l'étude qui comprend trois saisons : l'hiver (octobre à janvier), l'été (février à mai) et la saison pluvieuse (juin à septembre). Les données cumulées ($\pm$ SD) sont compilées afin d'établir, s'il y a lieu, la relation entre l'âge de l'hôte (âge larvaire) et l'incidence saisonnière de l'infestation par la mouche uzi.

Les données obtenues indiquent que la saison et l'âge des larves influencent tous deux le niveau d'infestation par la mouche uzi. Ceci est évident du fait que l'on enregistre l'infestation maximale, quel que soit l'âge des larves de vers à soie, à la saison pluvieuse ($16,87 \pm 6,07$ %), puis en hiver ($14,33 \pm 5,66$ %) et l'infestation la plus faible en été ($7,13 \pm 2,79$ %). Le schéma de l'incidence saisonnière obtenu dans cette observation est conforme aux résultats des travaux antérieurs (Kumar et Jolly, 1986a ; Kumar et coll., 1987).

En ce qui concerne la relation entre l'âge de l'hôte et l'incidence de l'infestation par la mouche uzi, on observe que les larves hôtes du premier et du deuxième âge sont exemptes d'infestation, quelle que soit la saison. On enregistre un taux minimal d'infestation par la mouche uzi de $0,22 \pm 0,12$ % (hiver), $0,07 \pm 0,08$ % (été) et $0,33 \pm 0,13$ % (saison pluvieuse) au troisième âge. Cette infestation passe à $2,87 \pm 1,31$ %, $1,08 \pm 0,10$ % et $3,74 \pm 2,95$ % au quatrième âge, puis à $11,24 \pm 5,26$ %, $5,98 \pm 3,02$ % et $12,80 \pm 5,95$ % au cinquième âge, respectivement pour l'hiver, l'été et la saison pluvieuse. On peut donc en conclure que l'augmentation de l'infestation par la mouche uzi se produit en même temps que l'augmentation de l'âge des larves hôtes au-delà du deuxième âge. Ce résultat est partiellement conforme aux observations effectuées sur une espèce voisine, *Exorista mella* (Adam et Watson, 1971) et sur le tachinidé *Winthemia menducae* (DeLoach et Rabb, 1971). Par ailleurs, on a constaté que chaque larve hôte portait entre 2 et 3 cicatrices, indiquant le développement de 2 à 3 asticots uzi sur chacune d'elles.

PARASITES OF THE UZIFLY, *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE). XIV. BIOLOGY OF *NESOLYNX THYMUS* (GIRAULT)

PRADIP KUMAR, O.K. REMADEVI, RAM KISHORE & K. SENGUPTA

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

Keywords : *Exorista sorbillans*, *Nesolynx thymus*, Tachinidae, Eulophidae.

Exorista sorbillans is a serious endolarval parasite of the silkworm, causing considerable damage to the sericulture industry in India (Kumar and Jolly, 1986). *Nesolynx thymus* (Hymenoptera : Eulophidae) has been reported as a pupal parasite of the uzifly (Kumar *et al.*, 1986). The biology of this hyperparasite is described here for the first time.

A laboratory colony of *N. thymus* was established during March 1985 from parasitized uzifly puparia collected from Devanahalli Village (Mysore District). Following the protocol of Hagen (1964) the adult hyperparasites were provided with a 50 % aqueous honey solution as food (Hagen, 1964). The uzifly puparia collected from laboratory culture were exposed to the adults of *N. thymus* soon after their emergence in conical flasks for making observations on various biological aspects. All experimental observations, if not mentioned otherwise, were made at room temperatures varying between 24 °C-27 °C and humidity ranging from 64 %-73 %.

Mating of the adults of *N. thymus* takes place immediately after emergence. Copulation continues for 5-10 seconds. Males mate for 20-25 times with different females. Females mate only once on the day of emergence and rarely mate again. The adult female starts egg laying 10.65 ± 1.32 h after emergence. When the female encounters an uzi pupa of any age, colour and size, first it touches the host puparium with its antennae and then it climbs on it. After a brief walk on the host puparium it selects a suitable place (by touching the host body with its antennae) on the intersegmental membrane. Then the female perches and raises its body on all the legs. While bending the abdomen, the dark brownish ovipositor is lowered to pierce the host puparium to deposit eggs. During these activities the female keeps its antennae moving up and down.

Eggs are laid through any of the intersegmental membranes of the host puparium. The mean fecundity of the female reared in winter months (daily mean temperature ranging from 21 °C-23 °C and humidity ranging between 68 %-72.5 %) was 287.69 ± 43.86. During summer months (daily mean temperature ranging from 28 °C-30 °C and humidity ranging from 52 %-55 %), the average egg production recorded was 70.38 ± 22.48.

An average of 1.04 ± 0.13 days is required for hatching of both the fertilized and the unfertilized eggs. Newly hatched larvae are dirty creamish in colour. These larvae grow fast and pass through three larval stages to attain full maturity in 5.41 ± 0.56 days (n = 25). Mature larvae enter the pre-pupal stage after 5.86 ± 0.09 hr. The pupae are formed within the walls of the host puparium in 8.20 ± 0.27 h. The pupal period lasts for 7.40 ± 0.10 days.

Newly formed pupae are dull creamish in colour. Gradually their eyes turn to red colour and the body begins to take a brown tinge. By the end of the pupal period, the pupae become dark brown in colour. The transformation of the pupal colour from dull creamish to dark brown indicates imminent

emergence of *N. thymus*. The adult emergence of males takes place 1-2 h earlier than the females. On an average, the sex ratio in the offspring of a single fertilized female was 1:22.12 (male:female). The development of larvae hatched from unfertilized eggs led to emergence of adult males only.

Females survived for 19.20 ± 1.79 days, whereas the life span of males recorded was 6.16 ± 1.03 days. Under similar conditions, unfed females lived for 5.44 ± 1.43 days whereas the unfed males survived for 1.40 ± 0.29 days.

The life cycle of *N. thymus* was completed in 14.44 ± 0.79 days. *N. thymus* parasitised all the ages of host pupae if the eggs of the hyperparasite hatched prior to the eclosion of the adult uzi fly. One single adult female of *N. thymus* parasitized 6.00 ± 1.11 host pupae in its life time. 61.03 ± 5.21 individuals successfully completed the life cycle in a single host pupa.

N. thymus can be cultured throughout the year and there has been no arrest of growth.

Adult female *N. thymus* successfully parasitizes the pupae of the housefly, *Musca domestica*, the tachinid fly, *Blepharipa zebina*, and the calliphorid fly, *Chrysomya rufifacies*.

Though multiparasitic behaviour may impede the efficiency of this species, easy maintenance of culture of this hyperparasite, immediate mating after emergence, parasitization of host pupae, irrespective of age, size and colour, and completion of the life cycle faster than the host are advantageous factors from the point of view of the biological control of the uzi fly.

Experiments to evaluate the efficiency of *N. thymus* against the uzi fly at field level are under progress.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Dr K.M. Harris, Chief Taxonomist, and Dr N.P. Wyatt, Taxonomist, CIE, London, for identification of *N. thymus* and *C. rufifacies*, respectively. The authors also thank Dr S.B. Hassan, Scientist, CFTRI, Mysore, for providing housefly pupae from his laboratory culture.

REFERENCES

- HAGEN K.S. (1964) Biological control of pests and weeds. P. DeBach (ed.), Chapman and Hall Ltd, London, p. 168.
 KUMAR PRADIP, JOLLY M.S. (1986) Efficacy of nylon net enclosure in containing uzi fly (*Tricholyga bombycis* Beck) infestation to silkworm (*Bombyx mori* L.). Indian J. Seric., 25(2), 74-77.
 KUMAR PRADIP, REDDY V.V., SAMSON M.V., JOLLY M.S. (1986) Record of a new parasite of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera : Tachinidae), a larval parasite of *Bombyx mori* L. Curr. Sci., 55, 1040-1041.

PARASITES DE LA MOUCHE UZI *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE). XIV. BIOLOGIE DE *NESOLYNX THYMUS* (GIRAULT)

PRADIP KUMAR, O.K. REMADEVI, RAM KISHORE & K. SENGUPTA

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

Exorista sorbillans est un parasite endolarvaire du ver à soie provoquant des dommages considérables dans l'industrie séricicole indienne (Kumar et Jolly, 1986). *Nesolynx thymus* (Hymenoptera : Eulophidae) est un parasite pupal de la mouche uzi (Kumar et coll., 1986). La biologie de cet hyperparasite est décrite dans cet article pour la première fois.

Une colonie expérimentale de *N. thymus* a été établie en mars 1985 à partir de pupariums de mouches uzi parasitées prélevés dans le village de Devanahalli (district de Mysore). Suivant le protocole de Hagen (1964), les hyperparasites adultes sont alimentés avec une solution aqueuse de miel à 50 % (Hagen, 1964). Les mouches uzi prélevées sur un élevage expérimental sont exposées aux adultes de *N. thymus* peu après leur émergence dans des bechers coniques afin d'effectuer les observations sur leurs divers aspects biologiques. Toutes les observations, sauf indication contraire, ont été réalisées à des températures ambiantes comprises entre 24 °C et 27 °C et une humidité relative comprise entre 64 % et 73 %.

L'accouplement des adultes de *N. thymus* a lieu dès la sortie d'émergence et dure de 5 à 10 secondes. Les mâles s'accouplent 20 à 25 fois à des femelles différentes. Les femelles s'accouplent une seule fois le jour de leur émergence et s'accouplent rarement une deuxième fois. La femelle adulte commence à pondre ses oeufs 10,65 ± 1,32 h après l'émergence. Quels que soient l'âge, la couleur ou la taille de la pupe uzi rencontrée, la femelle touche l'hôte avec ses antennes avant de monter sur son corps. Après une courte marche sur l'hôte, elle sélectionne un endroit approprié (par toucher au moyen de ses antennes) sur la membrane intersegmentale. Ensuite, la femelle se redresse et soulève son corps sur toutes les pattes. En même temps que la femelle courbe son abdomen, l'ovipositeur de couleur marron foncé s'abaisse pour percer le puparium de l'hôte et déposer les oeufs. Au cours de ces activités, la femelle bouge continuellement ses antennes de haut en bas.

Les oeufs sont pondus à travers n'importe laquelle des membranes intersegmentales du puparium hôte. La fécondité moyenne de la femelle élevée pendant les mois d'hiver (température moyenne journalière de 21 °C à 23 °C et humidité moyenne journalière de 68 % à 72,5 %) est de 287,69 ± 43,86. Pendant les mois d'été (température moyenne journalière de 28 °C à 30 °C et humidité moyenne journalière de 52 % à 55 %), la production d'oeufs moyenne est de 70,38 ± 22,48.

En moyenne, 1,04 ± 0,13 jours sont nécessaires à l'éclosion des oeufs fécondés et non fécondés. Les larves en sortie d'éclosion sont de couleur blanc crème sale. Ces larves croissent rapidement ; elles passent par trois stades larvaires et arrivent à maturité en 5,41 ± 0,56 jours (n = 25). Les larves matures entrent dans le stade pré-pupal après 5,86 ± 0,09 h. Les pupes se forment à l'intérieur des parois du puparium de l'hôte en 8,20 ± 0,27 h. La période pupale dure 7,40 ± 0,10 jours.

Les pupes nouvellement formées sont de couleur crème foncé. Leurs yeux deviennent progressivement rouges et leur corps commence à prendre une nuance marron. A la fin de la période pupale, les pupes sont de couleur marron foncé. Le passage de la couleur crème foncé à la couleur marron foncé chez les pupes indique l'émergence imminente de *N. thymus*. Les mâles émergent entre 1 et 2 h avant les femelles. En moyenne, le ratio des sexes de la progéniture d'un individu femelle

fécondé est de 1:22,12 (mâle:femelle). Le développement des larves écloses d'oeufs non fécondés conduit à l'émergence d'adultes mâles uniquement.

Les femelles survivent $19,20 \pm 1,79$ jours, tandis que la durée de vie des mâles observée est de $6,16 \pm 1,03$ jours. Dans des conditions identiques, les femelles non alimentées vivent $5,44 \pm 1,43$ jours alors que les mâles non alimentés survivent $1,40 \pm 0,29$ jours.

Le cycle vital de *N. thymus* est terminé en $14,44 \pm 0,79$ jours. *N. thymus* parasite les pupes hôtes à tous les âges si les oeufs de l'hyperparasite éclosent avant l'éclosion de la mouche uzi adulte. Un individu femelle de *N. thymus* parasite $6,00 \pm 1,11$ pupes hôtes au cours de sa vie. $61,03 \pm 5,21$ individus parviennent à terminer leur cycle vital sur une seule pupa hôte.

N. thymus peut être élevé tout au long de l'année et il n'y a pas d'arrêt de la croissance.

L'adulte femelle de *N. thymus* peut parasiter les pupes de la mouche domestique *Musca domestica*, le tachine *Blepharipa zebina* et le calliphore *Chrysomya rufifacies*.

Bien que son comportement pluriparasitaire puisse faire obstacle à l'efficacité de cette espèce, la facilité d'élevage de cet hyperparasite, le fait qu'il s'accouple en sortie d'émergence, l'infestation des pupes hôtes sans distinction de leur âge, taille ou couleur, et le fait qu'il termine son cycle plus vite que son hôte constituent des facteurs avantageux du point de vue de la lutte biologique contre la mouche uzi.

Des expériences visant à évaluer l'action de *N. thymus* contre la mouche uzi chez les fermiers sont en cours.

IMPROVED EGG-LAYING DEVICE IN *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

B.R.R. Pd. SINHA*, M.K. SINGH*, P.R.T. RAO*, P. TEWARY*, M.M. ALAM*,
S.S. SINHA** & K. SENGUPTA***

* Central Tasar Silkworm Seed Station (Lakha), P. Box no. 15, P.O. & Distt. Raigarh
(M.P.) - 496 001, India.

** Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834 005, Bihar, India.

*** Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal,
India.

Keywords : Decoupled, oviposition, meconium, disinfection, predators.

INTRODUCTION

In tropical tasar culture, the egg collection of *Antheraea mylitta* D. has always remained a floating issue among the package of practices. Various devices and materials have been put under extensive use for egg deposition. Traditional tribes of most of the regions retain the decoupled moths in leaf cups made of specific host plants. State Government agencies and other organisations put the mother moths in bamboo baskets or clay pots ; sweet boxes (made of thick paper) are also observed to be used for the very purposes.

Among the above practices, leaf cups require more manual labour in their preparation ; the use of clay pitchers and earthen cups show great loss during handling and sweet boxes become very costly when the purchase is very frequent since these boxes cannot be used repeatedly.

An experiment has been laid out with sweet boxes, earthen cups and plastic boxes - a new device, to find a suitable device for egg laying.

MATERIALS AND METHODS

Three different treatments were conducted, viz. (i) sweet boxes (size : 14 cm × 12 cm × 3.5 cm), (ii) earthen cups (size : 8 cm diam. × 3 cm ht), (iii) plastic boxes (size : 6.5 cm × 5.5 cm × 3 cm), perforated on all the four sides and covered with a tight lid (Fig. 1) The length and width of the plastic boxes have been reduced to 0.5 cm in the lower portion so that one box can be set on another box to arrange the same in tiers of four to five boxes (Fig. 2).

The wings of the decoupled female were cut near to its abdomen to reduce the surface area (Fig. 3). The abdomen of the mother moth was slightly pressed to pass the urine before putting it in the sweet boxes, earthen cups and plastic boxes. In plastic boxes, a piece of blotting paper (preferably Whatman no. 1) was placed to soak the further urine passed by the moth at the time of oviposition. After putting the moths in these devices, earthen cups, sweet boxes and plastic boxes were arranged in tiers at room temperature and relative humidity. After 72 hours, the eggs of all the three treatments were collected and counted. Account was also taken for the unlaidd eggs that were still existing in the abdomen of the mother moth.

The experiment was conducted in all the three seasons during 1987 and 1988.

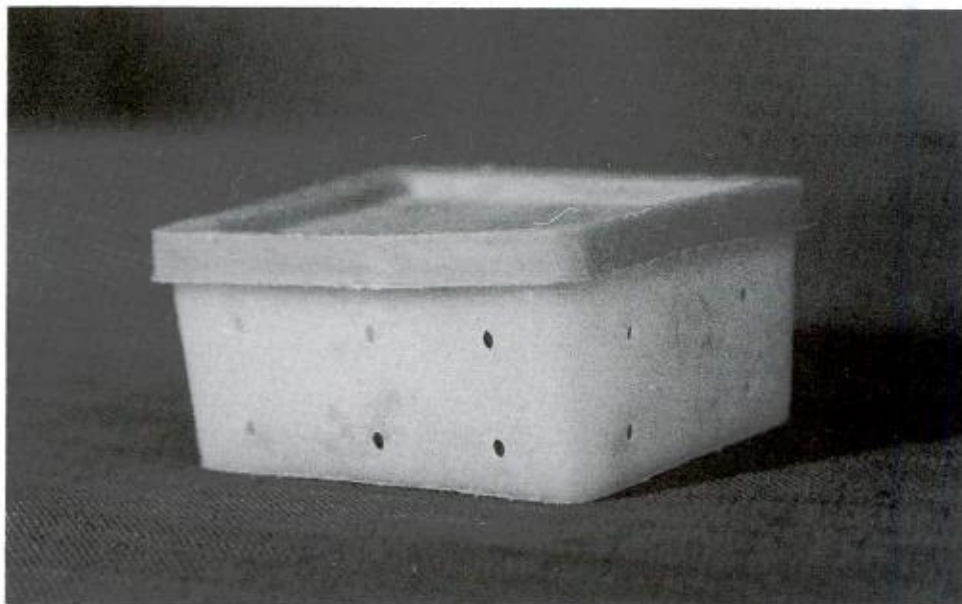


Fig. 1

RESULTS AND DISCUSSION

Table I shows that the amount of eggs laid in the sweet boxes and earthen cups is quite at par with the amount of eggs laid in plastic boxes. But the extensive use of the earthen cups led to the following points : (i) frequent loss of the cups due to breakage, which, in turn, increases its further demand ; (ii) loss of eggs at the time of scraping since they stick firmly to the rough surface of the cups along with the meconium ; (iii) loss of eggs and their mother moths due to predators like rats and lizards and (iv) disinfecting and cleaning become more panic especially during the rainy season.

The sweet boxes become more expensive since the same material cannot be used in second or third time. Moreover, these boxes can hardly check the interference of predators like rats and lizards.

The use of the plastic boxes led to the advantages of (i) protection of the moth and its eggs from the predators for lizards and rats are unable to open the lid easily ; (ii) incidence of cross infection has been minimised during handling, etc., (iii) the scraping of the eggs with the hands is not necessary since the blotting paper itself can be dipped under water to collect the eggs ; (iv) plastic boxes are easy to clean and disinfect even in the rainy season and (v) the plastic boxes, once purchased, can be used many times, which ultimately reduces the recurring expenditure.

Table I. Improved egg-laying device in *A. mylitta* D.Tableau I. Matériel de ponte amélioré chez *A. mylitta* D.

Year	Season	Treatment	Replication*	Average no. of unlaidd eggs	Average no. of eggs laid	Co-efficient of eggs laid (%)
<i>Année</i>	<i>Saison</i>	<i>Traitement</i>	<i>Réplikat*</i>	<i>Nombre moyen d'oeufs non pondus</i>	<i>Nombre moyen d'oeufs pondus</i>	<i>Coefficient d'oeufs pondus (%)</i>
1987	I	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	40.08	167.84	80.72
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	46.56	164.32	77.92
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	33.44	174.52	83.91
	II	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	35.32	192.64	84.50
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	35.32	192.64	84.50
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	43/49	187.48	81.17
	III	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	24.60	228.40	90.27
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	21.00	232.96	91.73
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	29.00	212.60	87.99
1988	I	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	35.24	200.80	85.07
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	33.08	218.84	86.87
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	38.20	198.36	83.86
	II	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	32.04	219.92	87.28
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	31.16	225.96	87.88
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	30.52	231.56	88.35
	III	Plastic boxes / Boîtes en plastique	25	21.48	244.48	91.92
		Sweet boxes / Boîtes à bonbons	25	24.80	238.20	90.57
		Earthen cups / Tasses en terre cuite	25	29.44	234.52	88.85

* Here by replication is meant the number of packets, i.e. each pack containing one moth is one replication.

* Par répliation on entend le nombre d'emballages : chaque emballage contenant un papillon constitue un répliat.

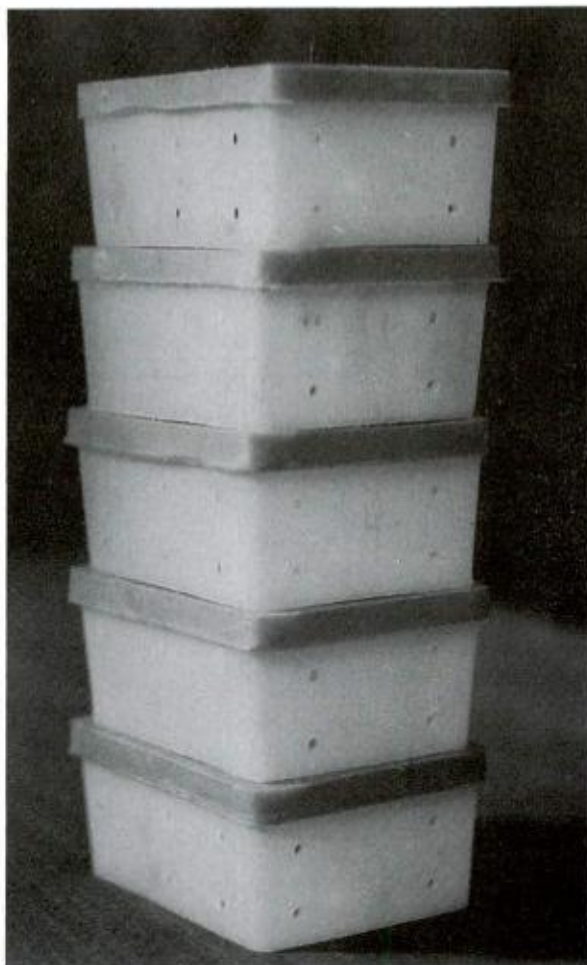


Fig. 2

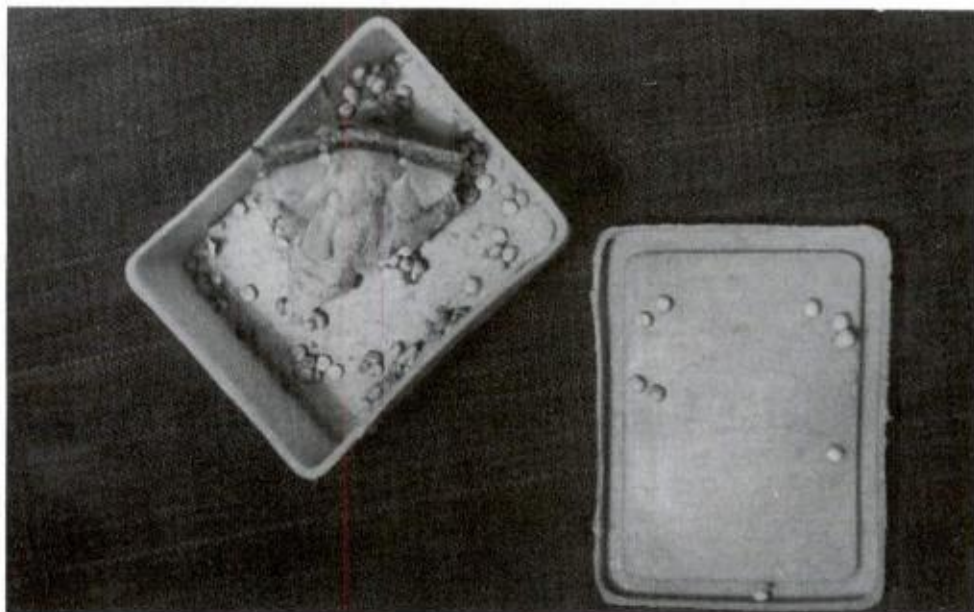


Fig. 3

MATERIEL AMELIORE POUR LA PONTE CHEZ *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

B.R.R. Pd. SINHA*, M.K. SINGH*, P.R.T. RAO*, P. TEWARY*, M.M. ALAM*,
S.S. SINHA** & K. SENGUPTA***

* Central Tasar Silkworm Seed Station (Lakha), P. Box no. 15, P.O. & Distt. Raigarh
(M.P.) - 496 001, Inde.

** Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834 005, Bihar, Inde.

*** Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal,
Inde.

INTRODUCTION

Dans l'élevage tropical tasar, la collecte des oeufs d'*Antheraea mylitta* D. est l'un des aspects les plus délicats des diverses phases d'élevage. On utilise un grand nombre de dispositifs et équipements pour permettre l'oviposition. Dans la plupart des régions, les sériciculteurs conservent habituellement les papillons désaccouplés dans des feuilles de plantes hôtes spécifiques. Dans les fermes des gouvernements d'Etats et d'autres organisations, on place les papillons mères dans des paniers en bambou ou des pots en argile ; l'utilisation de boîtes à bonbons (en papier épais) est également fréquente.

Parmi les méthodes décrites ci-dessus, les feuilles constituent le système qui demande le plus de travail manuel quant à leur préparation ; l'utilisation de cruches en argile et de tasses en terre occasionnent une forte perte au cours de la manipulation. Par ailleurs, les boîtes à bonbons devant être renouvelées fréquemment sont très onéreuses à l'usage.

Une expérience a été initiée avec des boîtes à bonbon, des tasses en terre et des récipients en plastique (nouveau matériel) afin de définir une méthode adaptée pour la ponte des oeufs.

MATERIELS ET METHODES

Trois traitements différents ont été effectués : 1) boîtes à bonbons (taille : 14 cm × 12 cm × 3,5 cm), 2) tasses en terre (taille : 8 cm de diamètre × 3 cm de hauteur), 3) récipients en plastique (taille : 6,5 cm × 5,5 cm × 3 cm) perforés sur les quatre côtés et recouverts d'un couvercle hermétique (Fig. 1). On a réduit la longueur et la largeur de la partie inférieure des boîtes en plastique de 0,5 cm afin de les empiler (Fig. 2).

Les ailes de la femelle désaccouplée sont sectionnées à la hauteur de l'abdomen afin de réduire la surface nécessaire à la ponte (Fig. 3). L'abdomen du papillon mère est légèrement pressé afin d'évacuer l'urine du papillon avant de le placer dans les boîtes de ponte (boîtes à bonbons, tasses en terre et récipients en plastique). Dans les récipients en plastique, un morceau de papier filtre (de préférence du Whatman n° 1) permet d'absorber l'urine émise par le papillon au moment de la ponte. Une fois les papillons déposés dans les récipients, les tasses en terre, les boîtes à bonbons et les boîtes en plastiques sont empilées et placées à température et humidité relative ambiantes. Après 72 heures,

les oeufs sont prélevés et comptés. On tient également compte des oeufs non pondus se trouvant encore dans l'abdomen du papillon mère.

L'expérience a été menée pendant les trois saisons de 1987 et 1988.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I montre que le nombre d'oeufs pondus dans les boîtes à bonbons et dans les tasses en terre est tout à fait comparable au nombre d'oeufs pondus dans les boîtes en plastique. Cependant, l'usage extensif des tasses en terre entraîne les problèmes suivants : 1) les tasses se cassent fréquemment, ce qui entraîne des dépenses supplémentaires ; 2) perte au moment de la récupération des oeufs car ils adhèrent à la surface rugueuse des tasses ainsi qu'au méconium ; 3) perte d'oeufs et de papillons mères causée par des prédateurs tels que rats et lézards et 4) la désinfection et le nettoyage sont très difficiles, particulièrement à la saison pluvieuse.

Les boîtes à bonbons sont plus onéreuses car elles ne peuvent pas être réutilisées. De plus, ces boîtes ne permettent pas d'empêcher les dégâts dûs aux prédateurs comme les rats et les lézards.

L'utilisation des boîtes en plastique présente les avantages suivants : 1) protection du papillon et de ses oeufs contre les prédateurs car les lézards et les rats ne peuvent pas ouvrir le couvercle ; 2) minimalisation de l'incidence des infestations croisées au cours de la manipulation, etc. 3) il n'est pas nécessaire de récupérer les oeufs à la main puisqu'il est possible de tremper le papier filtre dans l'eau afin de récolter les oeufs ; 4) les récipients en plastique sont faciles à nettoyer et à désinfecter même pendant la saison pluvieuse et 5) les récipients en plastiques, une fois achetés, peuvent être réutilisés, ce qui, à terme, réduit les frais de fonctionnement.

EFFECT OF USING SOME FOOD ADJUNCTS WITH THE LARVAL DIET ON MOTH WEIGHT, FECUNDITY AND EGG HATCHABILITY IN *ANTHRAEA MYLITTA* (SATURNIIDAE : LEPIDOPTERA)

KUMARI LALITA, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA

Department of Zoology, Magadh University, Gaya - 824 234, India.

Anthraea mylitta larvae fed on mature Arjuna (*Terminalia arjuna*) leaves smeared with butter or vitamin B complex failed to form cocoons. Larvae fed on leaves smeared with 20 % Protinex (a commercially available source of amino acids) or 20 % glucose solution developed into significantly heavier females with greater fecundity than those resulting from control larvae fed on unsmeared leaves. Egg hatchability was not affected.

Keywords : *Anthraea mylitta*, Protinex, glucose, vitamin B complex, butter, moth weight, fecundity, egg hatchability.

It has been reported in the case of several species of insects including silkworms that nutritional conditions during immature stages contribute much to the quantity of eggs to be oviposited by the imago (Purohit *et al.*, 1975 ; Krishnaswamy *et al.*, 1978 ; Mukherjee *et al.*, 1983). A positive correlation between body weight of female moth and egg production in silkworms has also been reported (Sidhu and Khan, 1969 ; Tripathi *et al.*, 1989). An attempt was made to find out if supplementation of normal leaf diet (mature leaves of pruned *Terminalia arjuna* trees : Tripathi *et al.*, 1988) with some commercially available products providing sugars, amino acids and lipids, would lead to development of healthier and heavier female moths which would produce larger than normal number of eggs.

Cocoons of *A. mylitta* were procured from tribal people of Chaibasa (South Bihar) and maintained in wooden cages till the emergence of moths. The entire grainage operation was done according to the technique of Krishnaswamy *et al.* (1973) and Jolly (1983). After copulation, female moths laid eggs, from which first instar larvae hatched out. Five hundred larvae were picked up by random sampling and divided into 5 groups (each of 10 replicates of 10 larvae) fed respectively on (1) mature leaves of pruned Arjuna trees (control), (2) leaves smeared with a 20 % aqueous solution of Protinex (Pfizer), (3) leaves smeared with 20 % glucose (Glaxo), (4) leaves smeared with a vitamin B complex preparation (E. Merck), and (5) leaves smeared with Amul butter (Sabar Kantha District Co-operative Milk Producers, Himanagar, India). Female moths obtained from these larvae were weighed and eggs laid by each moth were counted. Egg hatchability (%) was determined following hatching out of first instar larvae. The data were subjected to statistical analysis involving analysis of variance and determination of critical difference (CD).

Larvae allowed to feed on butter- or vitamin B complex-smeared leaves failed to form cocoons. Larvae fed on Protinex-smeared leaves developed into female moths which were heavier by 40 % and laid 33 % more eggs than those developed from normally fed control larvae (Table I). Glucose smearing of leaves resulted in 26 % heavier female moths which laid 10 % more than the normal number (about 112) of eggs. Egg hatchability (90-92 %) was not affected (Table I).

Table I. Effect of food adjuncts (Protinex and glucose) fed larvae of *Antheraea mylitta* on moth weight, fecundity and egg hatchability.

Tableau I. Effet de l'addition de Protinex et de glucose à l'alimentation sur le poids des papillons, la fécondité et le taux d'éclosion chez les larves d'*Antheraea mylitta*.

Replicates	Control			Protinex			Glucose		
	Moth weight (g)	Eggs laid	Hatching (%)	Moth weight (g)	Eggs laid	Hatching (%)	Moth weight (g)	Eggs laid	Hatching (%)
Réplicats	Témoin			Protinex			Glucose		
	Poids d'un papillon (g)	Oeufs pondus	Eclosion (%)	Poids d'un papillon (g)	Oeufs pondus	Eclosion (%)	Poids d'un papillon (g)	Oeufs pondus	Eclosion (%)
1	4.33	98	95.1	7.01	109	94.3	6.21	100	88.3
2	4.60	98	95.8	7.16	113	95.8	6.33	102	85.2
3	4.79	104	95.1	7.23	115	92.8	6.42	108	98.1
4	4.91	103	95.1	7.25	128	89.6	6.52	122	88.9
5	5.14	106	99.3	7.30	138	88.2	6.59	118	91.2
6	5.29	108	79.9	7.32	156	93.8	6.73	136	96.3
7	5.33	112	88.3	7.48	162	85.0	6.81	130	83.9
8	5.75	122	94.1	7.63	188	88.2	6.82	132	84.0
9	6.20	130	87.9	7.65	187	93.8	6.83	142	91.4
10	6.39	135	86.8	8.00	191	91.4	6.92	149	88.8
Mean	5.27	111.6	91.74	7.40	148.7	91.29	6.62	123.9	89.61
Moyenne									
± SE	0.18	4.14	1.83	0.06	10.31	1.08	0.07	5.32	1.52
± écart type									

CD =

Female moth weight / Poids d'un papillon femelle : 0.232.

Number of eggs / Nombre d'oeufs : 10.7.

Egg hatchability / Taux d'éclosion : 4.463.

Each figure is the mean of 10 readings / Chaque chiffre correspond à la moyenne de 10 observations.

Smearing or spraying of leaves to be used by phytophagous insects has been reported by some earlier workers (Dethier, 1937; Gothief and Beck, 1967). Smearing of leaves with Protinex or glucose did not lead to greater food consumption by *A. mylitta* larvae. The advantageous effect was certainly due to additional supply of sugar or amino acids. Faster development, heavier weight and increased fecundity of female adults have been observed in spruce bud worms (McMorran, 1965), gypsy moth (Leonard and Doane, 1966) and silkworms (Matsuda and Matsuura, 1967) by rearing larvae on a diet containing vitamin-free protein, starch and sugar (sucrose or glucose). Evidence is available that larvae fed on diets containing vitamin B complex result in moths with lower fecundity (Solomon, 1966) and provision of cholesterol in the larval diet of *Antheraea pernyi* results in 100 % death of insects before cocooning (Riddiford, 1968). These results emphasize the importance of larval nutrition in relation to the size of adults and egg production. Further research is needed to find out some inexpensive

sources of protein or sugar for spraying on leaves of host plants for obtaining large cocoons and healthy female moths.

REFERENCES

- DETHIER V.G. (1937) Gustation and olfaction in Lepidopteran larvae. Biol. Bull., 72, 7-23.
- GOTHIEF S., BECK S.D. (1967) Larval feeding behaviour of the cabbage looper, *Trichoplusia* Sp. J. Insect Physiol., 13, 1039-1053.
- JOLLY M.S. (1983) Organisation of industrial bivoltine grainage for Tropics. Seri. Project No. 3, CSRTI, Govt. of India, Mysore.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYA NARAYAN S.K., KUMAR R. (1973) Silkworm rearing. Sericulture Manual 2, FAO Agric. Services Bull., 15/2, 51-53.
- KRISHNASWAMY S., SINGH K., RAGHURAMAN R., GEETA DEVI (1978) Studies on the relationship between pupal weight and fecundity. Annual Report, CSR & TI, Govt. of India, Mysore.
- LEONARD E., DOANE C.C. (1966) An artificial diet for the gypsy moth, *Porthetria dispar* (Lepidoptera : Lymantriidae). Ann. Ent. Soc. Amer., 59, 462-464.
- MATSUDA M., MATSUURA Y. (1967) The germ-free rearing of the silkworm (*Bombyx mori* L.) in the flexible plastic isolator. J. Seric. Sci. Japan, 36, 403-408.
- McMORRAN A. (1965) A synthetic diet for the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem) (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Entomol., 92, 58-62.
- MUKHERJEE P.K., ROY A.K., CHAKRABORTY N.C. (1983) Studies on the effect of pupal weight on fecundity and hatchability of multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. Proc. Nat. Seminar on Silk Research and Development, Govt. of India, Bangalore.
- PURHIT M.L., KHETRI A.K., AGRAWAL R.K. (1975) Effect of nutrition on fecundity, longevity and egg viability of *Laphygma exigua* Hb. (Lepidoptera : Noctuidae). Indian J. Ent., 37, 7-10.
- RIDDIFORD L.M. (1968) Artificial diet for cecropia and other saturniid silkworms. Science, 160, 1461-1462.
- SIDHU N.S., KHANA A.A. (1969) Egg laying as a hereditary character in silkworm. Fertility difference in three silkworm breeds. SIB, no. 2, CSR & TI, Govt. of India, Mysore.
- SOLOMON J.D. (1966) Artificial rearing of the carpenter worm, *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera : Cossidae), and observations of its development. Ann. Entomol. Soc. Amer., 59, 1197-1200.
- TRIPATHI A.K., SINHA D.P., SINGH S.B. (1988) A comparative study of rearing *Antheraea mylitta* (Saturniidae : Lepidoptera) larva on nine species of host plants. Environment & Ecology, 6, 331-334.
- TRIPATHI A.K., SINHA D.P., SINGH S.B. (1989) Fecundity and egg hatching in relation to body weight of female *Antheraea mylitta* (Saturniidae : Lepidoptera). Dr B.S. Chauhan's Comm. Vol. Publ. Zoological Soc. of India, 43-47.

EFFET DE L'UTILISATION DE CERTAINS ADDITIFS ALIMENTAIRES A LA NOURRITURE DES LARVES SUR LE POIDS DES PAPILLONS, LA FECONDITE ET L'ECLOSION DES OEUF CHEZ *ANTHERAEA MYLITTA* (SATURNIIDAE : LEPIDOPTERA)

KUMARI LALITA, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA

Department of Zoology, Magadh University, Gaya - 824 234, Inde.

Des larves d'Antheraea mylitta nourries de feuilles matures de terminalier (*Terminalia arjuna*) préalablement enduites de beurre ou d'un complexe de vitamines B n'ont pas pu produire de cocons. Des larves nourries de feuilles enduites de Protinex à 20 % (source d'acides aminés vendue dans le commerce) ou d'une solution de glucose à 20 % donnent des femelles significativement plus lourdes avec une fécondité plus élevée que celles obtenues à partir des larves témoins nourries de feuilles non traitées.

On a observé que les conditions nutritionnelles imposées au cours des stades immatures influençaient largement la quantité d'oeufs pondus par l'imago chez de nombreuses espèces, dont le ver à soie (Purohit et coll., 1975 ; Krishnaswamy et coll., 1978 ; Mukherjee et coll., 1983). On a également observé une corrélation positive entre le poids du papillon femelle et la production d'oeufs chez le ver à soie (Sidhu et Khan, 1969 ; Tripathi et coll., 1989). Cette étude vise à déterminer si l'addition de substances en vente dans le commerce contenant des sucres, des acides aminés et des lipides au régime alimentaire normal (feuilles matures d'arbres taillés de *Terminalia arjuna* : Tripathi et coll., 1988) entraîne le développement de papillons femelles plus sains et plus lourds produisant un nombre d'oeufs plus élevé que la normale.

Les cocons d'*A. mylitta* ont été fournis par les villageois de Chaibasa (Sud Bihar) et conservés dans des cages en bois jusqu'à l'émergence des papillons. Le grainage a été entièrement réalisé selon les techniques de Krishnaswamy et coll. (1973) et de Jolly (1983). Après l'accouplement, les papillons femelles pondent leurs oeufs desquels éclosent les larves du premier âge. Cinq cents larves ont été prélevées au hasard et réparties en 5 groupes (contenant chacun 10 réplicats de 10 larves) nourris respectivement de (1) feuilles matures de terminaliers taillés (témoin), (2) de feuilles enduites d'une solution aqueuse de Protinex (Pfizer) à 20 %, (3) de feuilles enduites de glucose (Glaxo) à 20 %, (4) de feuilles enduites d'une préparation de vitamines B (E. Merck) et (5) de feuilles enduites de beurre Amul (production de la coopérative laitière du district de Sabar Kantha, Himatnagar, Inde). Les papillons femelles obtenus à partir de ces larves sont pesés et le nombre d'oeufs pondus par chaque papillon est noté. Le taux d'éclosion (%) est déterminé sur la base du nombre de larves du premier âge écloses. Les données sont soumises à une analyse statistique comprenant l'analyse de variance et la définition de l'intervalle de confiance (IC).

Les larves nourries de feuilles enduites de beurre ou du complexe de vitamines B ne donnent aucun cocon. Les larves nourries de feuilles enduites de Protinex donnent des papillons femelles ayant un poids supérieur de 40 % et donnant des pontes supérieures de 33 % à ceux des papillons femelles issus des larves témoins (Tableau I). L'addition de glucose aux feuilles permet d'obtenir des femelles d'un poids supérieur de 26 % et ayant un taux de ponte supérieur de 10 % par rapport au nombre normal d'oeufs (environ 112). Le taux d'éclosion (90 à 92 %) n'est pas affecté (Tableau I).

Le traitement des feuilles à consommer par des insectes phytophages a déjà été réalisé (Dethier, 1937 ; Gothief et Beck, 1967). L'application de Protinex ou de glucose sur les feuilles n'entraîne pas une consommation plus élevée de feuilles par les larves d'*A. myliita*. Cet effet positif est certainement dû à l'apport supplémentaire de sucre et d'acides aminés. On a déjà observé une accélération du développement et une augmentation du poids et de la fécondité des femelles adultes chez *Choristoneura fumiferana* (McMorran, 1965), chez le zigzag (Leonard et Doane, 1966) et chez le ver à soie (Matsuda et Matsuura, 1967) lorsque les larves sont nourries sur un aliment à base de protéines sans vitamines, d'amidon et de sucre (sucrose et glucose). On a déjà démontré que les larves nourries d'aliments contenant un complexe de vitamines B produisaient des papillons à faible fécondité (Solomon, 1966) et que l'apport de cholestérol dans l'alimentation des larves d'*Antheraea pernyi* entraînait 100 % de mortalité chez les insectes avant le filage (Riddiford, 1968). Ces résultats mettent en évidence l'importance de la nutrition larvaire du point de vue de la taille des adultes et de la production d'oeufs. D'autres recherches sont nécessaires pour découvrir des sources de protéines ou de sucres à vaporiser sur les plantes hôtes afin d'obtenir des cocons de grande taille et des papillons femelles sains.

A NOTE ON THE OCCURRENCE AND INHERITANCE OF FOLIACEOUS STIPULES IN MULBERRY

R. KUMAR*, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, S.R. RAMESH, GARGI* & M.S. JOLLY

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

Keywords : Mulberry, stipules, foliaceous.

The occurrence of caducous and scaly stipules together with their origin, development and morphology in genus *Morus* has been reported earlier (Majumdar and Mitra, 1948 ; Mitra, 1960). The present communication reports the occurrence of persistent and foliaceous stipules and their inheritance in this genus for the first time.

Under one of the breeding programmes conducted at Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, two mulberry varieties, viz. S-30 and Ber S-799, both with scaly and caducous stipules were crossed. The F₁ seeds were sown in earthen pots of equal size containing a mixture of sand, oil and farmyard manure in equal proportions. After three months the seedlings were transplanted in the field in 60 × 60 cm spacing to observe various traits and to produce the hybrid seeds. A total of 156 F₂ seedlings were raised in 1986 in the same field. Various traits were examined up to 1987.

On screening the progeny in F₂ the frequency of plants with various types of stipules was in the following order :

85 herbaceous : 60 scaly and 11 foliaceous.

The herbaceous and scaly stipules were of caducous nature in contrast to the foliaceous stipules which were of permanent type (Fig. 1). The F₂ population was tested for goodness of fit to an assumed ratio of 9:6:1. The chi square value ($\chi^2 = 0.284$) was calculated. Thus, it is concluded that the character is governed by two dominant genes showing a similar effect when present individually but, when both are present, they produce a double effect.

* Present address : Regional Sericultural Research Station, Club Road, Bongalpukhuri, Jorhat - 785 001, India.

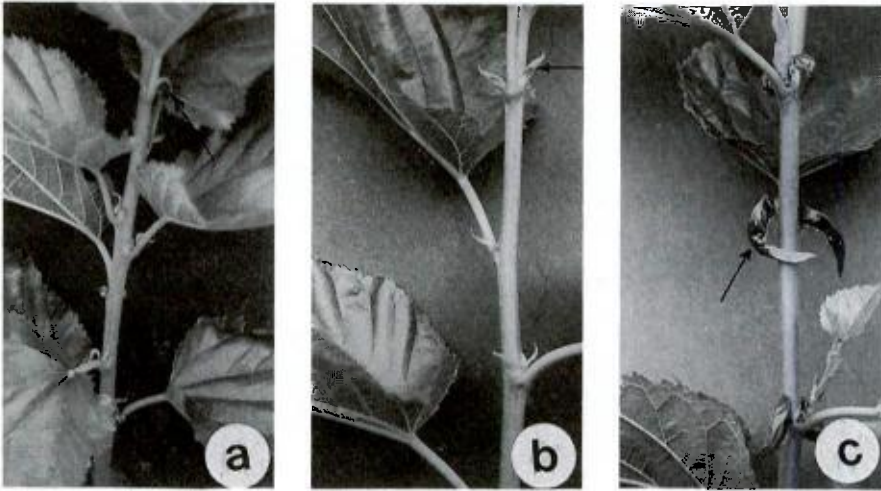


Fig: 1 : Mulberry stipules.

a. Scaly stipule.

b. Herbaceous stipule.

c. Foliaceous stipule.

Fig. 1 : Stipules du mûrier.

a. *Stipule squameuse.*

b. *Stipule herbacée.*

c. *Stipule foliacée.*

REFERENCES

- MAJUMDAR G.P., MITRA G.C. (1948) The origin and development of stipules in *Morus alba* L. Bull. Bot. Soc. Bengal, 2, 178-185.
 MITRA G.C. (1960) Morphology of stipules in dicotyledonous. Memoir Indi. Bot. Soc. Memoir., 3, 188-193.

NOTE SUR LA PRESENCE ET LA TRANSMISSION HEREDITAIRE DES STIPULES FOLIACEES CHEZ LE MURIER

R. KUMAR*, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, S.R. RAMESH, GARGI* & M.S. JOLLY

Mulberry Breeding and Genetics Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute,
Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

La présence de stipules caduques et squameuses, ainsi que leur origine, leur développement et leur morphologie chez le genre *Morus* ont déjà été étudiés (Majumdar et Mitra, 1948 ; Mitra, 1960). Cette communication décrit pour la première fois la présence de stipules persistantes foliacées et leur transmission héréditaire chez ce genre.

Dans le cadre de l'un des programmes de sélection du Central Sericultural Research and Training Institute de Mysore, deux variétés de mûrier, S-30 et Ber S-799, présentant toutes deux des stipules squameuses et caduques ont été croisées. Les graines F₁ ont été semées dans des pots en terre de taille égale contenant un mélange de sable, de terreau et de fumier en proportions égales. Après 3 mois, les plantules ont été plantées dans la mûraie à espacements de 60 × 60 cm afin d'observer les divers caractères et d'obtenir des graines hybrides. Un total de 156 plantules F₂ ont été cultivées en 1986 dans un même champ. Différents caractères ont été observés jusqu'en 1987.

Après observation des descendants en F₂, la fréquence des plants présentant différents types de stipules s'est établie comme suit :

85 herbacées : 60 squameuses et 11 foliacées.

Les stipules herbacées et squameuses sont de nature caduque contrairement aux stipules foliacées qui sont permanentes (Fig. 1). On a testé pour F₂ la validité du rapport 9:6:1 entre les différents phénotypes. La valeur de chi carré ($\chi^2 = 0,284$) obtenue permet de conclure que ce caractère est gouverné par deux gènes dominants. Ces deux gènes présentent un effet identique lorsqu'ils sont présents individuellement, mais lorsqu'ils sont présents simultanément, ils produisent un effet double.

* Adresse actuelle : Regional Sericultural Research Station, Club Road, Bongalpukhuri,
Jorhat - 785 001, Inde.

CONTROL OF NEMATODE INFESTATION IN MULBERRY FIELDS

J. SARKAR, S. SARKAR, B.K. DAS*, N.K. DAS**, P.K. MISTRI, A.K. SAHAKUNDU** & K. SENGUPTA**

Regional Sericultural Research Station, Bagmara, Mothabari, Malda, West Bengal, India.

A field experiment was conducted to evaluate the efficacy of Thimet-10G (phorate granules), Furadan-3G (carbafuran granules) and Neem oil-cake in controlling the root-knot disease of three varieties of mulberry (*Morus* spp.) caused by the nematode, *Meloidogyne incognita* Chitwood (Kofoid and White), during the years 1987-90. Results revealed that Neem oil-cake (1500 kg/ha/yr), Thimet-10G (3 kg ai/ha/yr) and Furadan-3G (6 kg ai/ha/yr) applied four times a year reduced the disease infestation and increased the leaf yield of mulberry.

Keywords : Root-knot, nematode control, mulberry.

INTRODUCTION

Nematodes are among the most abundant metazoans on the earth, which exist in three forms – as animal parasites, as plant parasites and as free-living animals. Some of the nematodes are serious pathogens of plants and animals and display a unique biological interaction with the hosts even with their simple, tiny, tubular structures. They are known to cause extensive damage to sugar beet, potato, tomato, wheat, rice, pulses, coconut plants, etc., by retarding their growth and reducing the yield of the concerned plants estimated to be at 10 % per annum for the USA (Leap, 1955 ; Wisson, 1960) and for the Netherlands (Oostenbrink, 1957). Singh *et al.* (1953) have reported an annual loss of wheat in Uttar Pradesh at 30 % for such parasites.

In mulberry, root-knot disease caused by *Meloidogyne incognita* Chitwood (Kofoid and White) was reported by Siokawa *et al.* (1960) from Japan followed by Narayanan *et al.* (1966) from India. Different nematicides and oil-cakes were used to control root-knot disease of different crops (Trivedi *et al.*, 1978 ; Koshy *et al.*, 1979 ; Nandal and Bhatti, 1980 ; Krishnaprasad, 1981). Efficacy of the chemical nematicides and oil-cakes on mulberry was reported by Toida *et al.* (1968) and Sikdar *et al.* (1986). In the present study, efficacy of some of the nematicides on three varieties of mulberry under field conditions have been established.

MATERIALS AND METHODS

A field experiment was conducted during the years 1987-88 to 1989-90 in a root-knot nematode infested mulberry garden with one-year-old plantation at Regional Sericultural Research Station, Bagmara, Malda. For the experiment, three varieties (S1, S799 and Local) under four treatments were taken in randomized block designed plots (plot size 14 ft × 14 ft with a spacing of 1.5 ft × 0.75 ft).

* Present address : Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734301, West Bengal, India.

** Present address : Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Table I. Effect of nematicides on root-knot disease of mulberry.

Tableau I. Effet des nématicides sur la maladie des galles des racines chez le mûrier.

Variety	Treatment	Plant height (cm)	Number of branches per plant	Number of leaves per plant	Leaf weight per plant (g)	Number of root-knot per stump
<i>Variété</i>	<i>Traitement</i>	<i>Hauteur du plant (cm)</i>	<i>Nombre de branches par plant</i>	<i>Nombre de feuilles par plant</i>	<i>Poids de feuilles par plant (g)</i>	<i>Nombre de galles de racines par souche</i>
S ₁	Thimet-10G	129.2	8.9	114.5	87.7	30.9
	Necm oil-cake	137.4	9.0	120.7	98.5	20.6
	Furadan-3G	128.2	10.0	128.9	92.9	35.4
	Control / <i>Témoin</i>	122.2	9.6	124.3	85.7	65.9
	Mean / <i>Moyenne</i>	129.3	9.4	122.1	91.2	38.2
S ₇₉₉	Thimet-10G	113.3	9.2	110.5	81.4	21.5
	Necm oil-cake	120.0	8.9	109.9	96.2	14.7
	Furadan-3G	114.5	8.3	105.0	91.0	23.0
	Control / <i>Témoin</i>	111.5	9.4	111.1	80.8	57.7
	Mean / <i>Moyenne</i>	114.8	9.0	109.1	87.4	29.2
Local	Thimet-10G	104.3	11.1	183.8	47.4	101.1
	Necm oil-cake	86.9	12.8	194.3	53.7	97.1
	Furadan-3G	86.7	11.4	188.5	65.7	158.8
	Control / <i>Témoin</i>	88.6	11.4	187.7	44.6	182.7
	Mean / <i>Moyenne</i>	91.6	11.7	188.6	52.8	134.9
Treatment mean <i>Moyenne des traitements</i>	Thimet-10G	115.6	9.7	136.3	72.2	51.2
	Necm oil-cake	114.8	10.2	141.6	82.8	44.1
	Furadan-3G	109.8	9.9	140.8	83.2	72.4
	Control / <i>Témoin</i>	107.4	10.1	141.0	70.4	102.1
CD at 5 %	Variety / <i>Variété</i>	8.6	0.9	13.1	10.4	22.3
	Treatment / <i>Traitement</i>	NS	NS	NS	NS	25.8
	Var. × treat / <i>Var. × trait.</i>	NS	NS	NS	NS	NS

Thimet-10G (3 kg ai/ha), Furadan-3G (6 kg ai/ha) and Necm oil-cake (1500 kg/ha) were used in equal split doses four times a year at an interval of three months. Nematicides were mixed in the soil by tilling, followed by irrigation in such a manner as to prevent leaching/flowing of nematicides from one plot to another. Fifteen days after the nematicide application, fertilizers (N:P:K, 300:100:100 kg/ha/yr) were used in four equal split doses to all the plots. Usual cultural operations

like tilling, weeding and irrigation were done as per the recommendation of CSR&TI, Berhampore. Ten randomly selected plants were uprooted from each plot after seventy-five days of each treatment for recording data on growth parameters like plant height, number of branches per plant, number of leaves per plant, leaf yield per plant and number of root-knots per stump. The plants were replanted after recording the data but were excluded from the succeeding samples.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance indicated significant seasonal, varietal and their interaction effects on the height of the plants, number of branches, number of leaves and number of root-knot. Varietal and seasonal effects on leaf yield per plant were also found significant, as also the effect of treatments on the number of root-knots. However, the interaction of treatments with season or variety was not found significant in any of the characters studied.

From Table I, it is observed that all the three nematicides were effective in reducing the number of root-knots significantly. Amongst them, performance of Neem oil-cake was found to be the best followed by Thimet-10G and Furadan-3G in order of merit. The difference between Neem oil-cake and Thimet-10G was not, however, significant. The performance of Neem oil-cake was significantly better than Furadan-3G.

It is interesting to note that S₁ and S₇₉₉ varieties were found to be significantly less infested with nematodes than Local variety, indicating some sort of nematode resistance in them. The leaf weight per plant, though not statistically significant, was found to be greater in all the nematicide-treated plots than in the control.

REFERENCES

- KOSHYP.K., RAJUP.S., WILSON K.I (1979) Efficacy of certain nematicides against *Meloidogyne incognita* in a Cardamom nursery. Nematol. Medit., 7, 195-198.
- KRISHNAPRASAD K.S. (1981) Comparative effectiveness of aldicarb and fenusulfothion in the control of *Meloidogyne incognita* on the flue cured tobacco. Tob. Res., 8, 112-114.
- LEAP (1955) King of the pest. The Saturday Evening Post, 15th Oct.
- NANDAL S.N., BHATTI D.S. (1980) Evaluation of nematicidal action of some synthetic chemicals against *Meloidogyne javanica*. Indian J. Nematol., 10, 69-70.
- NARAYANAN E.S., KASIVISWANATHAN K., IYENGAR M.N.S. (1966) A note on the occurrence of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) in local mulberry. Indian J. Seric., 5, 33-34.
- OOSTENBRINK (1957) Nematoden in verband met de Vruchtbaarheid van de grond. Veenman, Wageningen, 21 pp.
- SIKDAR A.K., GOVINDAIAH, MADHAVA RAO Y.R., JOLLY M.S., GIRIDHAR K. (1986) Control of root-knot nematode disease of mulberry by Temik-10G and oil-cakes. Indian J. Seric., 25(1), 33-35.
- SINGH B., SINGH J., MATHUR S.C. (1953) Earcockle or Sehun disease of wheat. Agriculture Anim. Husb., Uttar Pradesh, 3, 7-9.
- SIOKAWA H., ISHII G., KUWANAZ. (1960) On the root-knot nematodes, parasitic on the mulberry trees (3). Application of nematicides in mulberry gardens. Acta Sericologica, 34, 23-25.
- TOIDA Y., HARASHIMA N., KIKUCHI M. (1968) On control of nematodes by the application of nematicides in the mulberry fields. Acta Sericologica, 68, 106-115.
- TRIVEDI P.C., BHATNAGAR A., THIAGI P. (1978) Control of root-knot nematode of *Capsicum annum* by the application of oil-cakes. Indian Phytopathol., 31, 75.
- WISSON C.H.M. (1960) The case of bad nematode. Readers' Digest, January.

LUTTE CONTRE L'INFESTATION DES MURAIES PAR LES NEMATODES

J. SARKAR, S. SARKAR, B.K. DAS*, N.K. DAS**, P.K. MISTRI, A.K. SAHAKUNDU** & K. SENGUPTA

Regional Sericultural Research Station Bagmara, Mothabari, Malda, West Bengal, Inde.

*Une expérience a été réalisée sur le terrain de 1987 à 1990 afin d'évaluer l'efficacité du Thimet-10G (granules de phorate), du Furadan-3G (granules de carbafuran) et du tourteau de margousier dans la lutte contre la maladie des galles des racines chez trois variétés de mûrier (*Morus* spp.) causée par le nématode *Meliodogyne incognita* Chitwood (Kofoid et White). Les résultats montrent que le tourteau de margousier (1500 kg/ha/an), le Thimet-10G (3 kg ai/ha/an) et le Furadan-3G (6 kg ai/ha/an) appliqués quatre fois par an permettent de réduire l'infestation et d'augmenter le rendement en feuilles du mûrier.*

INTRODUCTION

Les nématodes comptent parmi les métazoaires les plus abondants sur terre et on les trouve sous trois formes : parasites d'animaux, parasites de végétaux et animaux indépendants. Certains nématodes constituent de dangereux pathogènes pour les végétaux et les animaux et présentent une interaction biologique unique avec leurs hôtes en dépit de la simplicité de leur structure tubulaire microscopique. On sait qu'ils causent des dommages considérables à la betterave à sucre, à la pomme de terre, à la tomate, au blé, au riz, au cocotier, etc. en retardant leur croissance ; on estime que la diminution du rendement de ces végétaux est de l'ordre de 10 % par an pour les Etats-Unis (Leap, 1955 ; Wisson, 1960) et pour les Pays-Bas (Oostenbrink, 1957). Singh et coll. (1953) ont observé que ces parasites causaient une perte annuelle de 30 % chez le blé dans l'Etat d'Uttar Pradesh.

Chez le mûrier, la maladie des galles des racines causée par *Meliodogyne incognita* Chitwood (Kofoid et White) a été observée au Japon par Siokawa et coll. (1960) et en Inde par Narayanan et coll. (1966). Différents nématicides et tourteaux à végétaux ont été utilisés pour lutter contre la maladie des galles des racines de nombreuses cultures (Trivedi et coll., 1978 ; Koshy et coll., 1979 ; Nandal et Bhatti, 1980 ; Krishnaprasad, 1981). L'action des nématicides chimiques et du tourteau chez le mûrier a été observée par Toida et coll. (1968) et Sikdar et coll. (1986). Dans cette étude, l'efficacité de certains nématicides dans des conditions naturelles a été établie pour trois variétés de mûriers.

MATERIELS ET METHODES

Une expérience sur le terrain a été réalisée de 1987-88 à 1989-90 dans une mûraie infestée par le nématode des galles des racines sur une plantation âgée de 1 an au Regional Sericultural Research Station de Bagmara (Malda). Pour cette expérience, trois variétés (S1, S799 et Locale) soumises à quatre traitements ont été prélevées sur des parcelles selon la méthode des blocs aléatoires (taille des parcelles 4,26 m × 4,26 m à espacements de 45,72 cm × 22,86 cm).

* Adresse actuelle : Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, West Bengal, Inde.

** Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, 742 101, West Bengal, Inde.

Le Thimet-10G (3 kg ai/ha), le Furdan-3G (6 kg ai/ha) et le tourteau de margousier (1 500 kg/ha) ont été appliqués en doses fractionnées égales quatre fois par an à intervalles de trois mois. Les nématicides sont mélangés à la terre par labourage, puis l'irrigation est faite de façon à éviter le lessivage et l'écoulement des nématicides d'une parcelle à l'autre. Quinze jours après l'application des nématicides, les engrais (N:P:K, 300:100:100 kg/ha/an) sont répandus en quatre doses fractionnées égales dans chaque parcelle. Les opérations culturales conventionnelles telles que le labourage, le désherbage et l'irrigation ont été réalisées selon les recommandations du CSR&TI de Berhampore. Dix plants sélectionnés au hasard sont prélevés dans chaque parcelle 75 jours après chacun des traitements pour permettre la collecte des données sur certains paramètres de croissance comme la hauteur du plant, le nombre de ramifications par plant, le nombre de feuilles par plant, le rendement en feuilles par plant et le nombre de galles de racines par souche. Les plants sont ensuite réintroduits mais écartés des échantillons suivants.

RESULTATS

L'analyse de variance montre que les saisons, les variétés et les interactions saison $\times$ variété ont un effet significatif sur la hauteur des plants, le nombre de ramifications, le nombre de feuilles et le nombre de galles de racine. Cependant, l'interaction des traitements avec les saisons ou les variétés n'est significative pour aucun des caractères étudiés.

A la lecture du tableau I, on observe que les trois nématicides permettent d'obtenir une diminution significative du nombre de galles de racines. Le tourteau de margousier donne les meilleurs résultats, suivi du Thimet-10G et du Furdan-3G. Toutefois, la différence entre le tourteau de margousier et le Thimet-10G n'est pas significative. L'action du tourteau de margousier est significativement supérieure à celle du Furdan-3G.

Il est intéressant de noter que les variétés S₁ et S₇₉₉ sont nettement moins infestées par les nématodes que la variété Locale, ce qui indique qu'elles ont une forme intrinsèque de résistance aux nématodes. Le poids de feuilles par plant, bien qu'il ne soit pas significatif au plan statistique, est plus élevé chez toutes les parcelles traitées avec les nématicides que chez les parcelles témoins.

STUDIES ON THE GERMINATION BEHAVIOUR AND LONGEVITY OF SOM (*MACHILUS BOMBYCINA*) SEEDS

RAJA RAM, A.K. SENGUPTA & M. DEVNATH

Host Plant Section, Regional Muga Research Station, Boko - 781 123, Assam, India.

Experiments were conducted to test the germination behaviour of pulped and depulped seeds of Machilus bombycina King and also the seed longevity of depulped seeds preserved for shorter durations. The germination percentage was much higher (84.75 %) in depulped seeds against 53.5 % germination of pulped seeds at the initial stage. Pulped seeds took a longer period for germination. Seed longevity of depulped seeds reduced drastically from 84.75 % initially to 40.5 % after one month and only 5 % after a three months' period of preservation.

Keywords : *Machilus bombycina*, pulp, germination, longevity, recalcitrant.

INTRODUCTION

The muga silkworm host plant, *Machilus bombycina* King, is reported to have very short-lived seeds (Chowdhury, 1981 ; Thangavelu *et al.*, 1988). Roberts (1989) reported a number of species like apple, citrus, plum as well as economically important tropical plantation and fruit crops, e.g. cocoa, rubber, coconut and mango together with a number of timber species, e.g. oak, chestnut and *Hopsea* spp., have a limited seed life span ranging from a few weeks to a few days.

Information on the germination behaviour of *Machilus bombycina* King seeds with and without pulp is not available. Thus, this aspect was studied under nursery conditions and seed longevity was tested periodically with depulped seeds preserved for shorter periods.

MATERIALS AND METHODS

Matured Som seeds were collected from Rasubalpara State Muga Farm, Meghalaya, on 6th May 1989. The germination behaviour of pulped and depulped seeds was tested with 6,000 seeds each with and without pulp replicated four times. The seeds were sown from the 1st day of collection to the 15th day of collection, i.e. from 07-05-89 to 21-05-89 after a short preservation from the 1st day to 15th day as mentioned in sowing dates. Before sowing, the seeds were soaked for 24 hours in cold water and only viable seeds were separated out and considered on the basis of the floating test. The seeds of different treatments were sown in separate nursery beds. Seed longevity was tested by germinating the depulped seeds stored in muslin cloth bags at room temperatures. Germination tests were carried out at regular intervals till three months in nursery beds having rooting media soil, sand and FYM (1:1:1). Each treatment was replicated four times with 100 seeds in each replication.

RESULTS AND DISCUSSION

Table I shows the germination behaviour of pulped and depulped seeds after a short period of preservation from the 1st to the 15th day of collection. Germination of seeds after the 1st day of collection was 53.5 % in pulped seeds against as high as 84.75 % in depulped seeds. It is also evident from this table that in both treatments there exists a negative correlation of viability or germination

percentage with the days of preservation. The germination percentage was higher (43.5 %) in depulped than in pulped seeds even after fifteen days of preservation. Seeds with pulp may possess weak germination inhibitors which might be the reason for comparatively poor germination results and delay in germination as is evident from Table I. An almost similar situation has been reported by Bhagot and Singh (1989) in *Prinsepia utilis* seeds.

Table I. Germination behaviour of pulped and depulped seeds of *M. bombycina* during different days of storage at room temperatures.

Tableau I. Germination des graines de *M. bombycina* avec ou sans pulpe en fonction de la durée de stockage à température ambiante.

Storage period period (days)	Germination period (days)						Germination %	
	Seed with pulp			Depulped seed			Seed with pulp	Depulped seed
	Start	Cease	Total	Start	Cease	Total		
<i>Durée de stockage (jours)</i>	<i>Période de germination (jours)</i>						<i>% Germination</i>	
	<i>Graine avec pulpe</i>			<i>Graine sans pulpe</i>			<i>Graine avec pulpe</i>	<i>Graine sans pulpe</i>
	<i>Début</i>	<i>Fin</i>	<i>Total</i>	<i>Début</i>	<i>Fin</i>	<i>Total</i>		
Initial germination <i>Germination initiale</i>	28	59	31	20	43	23	53.5	84.75
1st / <i>1er</i>	28	59	31	20	43	23	53.5	84.75
2nd / <i>2e</i>	28	60	32	20	43	23	53.25	84.75
3rd / <i>3e</i>	27	59	32	20	43	23	52.00	84.75
4th / <i>4e</i>	28	59	31	20	43	23	52.00	84.00
5th / <i>5e</i>	28	60	32	21	44	23	50.25	73.00
6th / <i>6e</i>	28	60	32	20	44	24	45.00	61.25
7th / <i>7e</i>	28	61	33	20	43	23	45.00	56.25
8th / <i>8e</i>	29	61	32	20	43	23	43.00	54.00
9th / <i>9e</i>	28	61	33	21	43	22	42.25	52.00
10th / <i>10e</i>	29	62	33	21	43	22	41.00	48.5
11th / <i>11e</i>	29	62	33	20	44	24	40.00	48.00
12th / <i>12e</i>	29	62	33	31	43	22	37.25	46.00
13th / <i>13e</i>	29	62	33	20	43	23	31.00	45.00
14th / <i>14e</i>	29	62	33	20	43	23	24.00	43.5
15th / <i>15e</i>	29	62	33	21	44	23	20.75	43.5

The results of seed longevity as affected by storage are given in Table II. The results obtained showed clearly that seed viability was lost quite rapidly, giving a germination percentage from

84.75 initially to as low as 5.0 % by the end of the three months' period. The steep fall of viability may be due to a recalcitrant behaviour of the seed as has been reported by Bahuguna and Sood (1987) as well as Bhagot and Singh (*op. cit.*) in *P. utilis*.

Table II. Germination capacity of *M. bombycina* seeds during various periods of storage at room temperatures.

Tableau II. Capacité germinatoire des graines de *M. bombycina* en fonction de la durée de stockage à température ambiante.

Storage period (months)	Germination period			Germination percentage
	Start	Cease	Total	
Durée de stockage (mois)	Période de germination			Pourcentage de germination
	Début	Fin	Total	
Initial germination	20	43	23	84.75
Germination initiale				
1	20	45	25	40.5
2	20	45	25	21.00
3	20	47	27	05.00

However, for the development of procedures for long-term seed preservation both for commercial use and for genetic conservation, studies on water and seed longevity, temperature and seed longevity, seed drying and genetic changes and regeneration standards are required to be worked out in future.

REFERENCES

- BAHUGUNA V.K., SOOD O.P. (1987) Germination behaviour of *Prinsepia utilis* Royle. An important shrub for reclamation of wastelands in Himalayas. Indian For., 113(5), 381-382.
 BHAGAT S., SINGH O. (1989) A note on germination and longevity of *Prinsepia utilis* Royle seed. Indian For., 115(6), 442-443.
 CHOWDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam Publication, p. 27.
 ROBERTS E.H. (1989) Seed storage for genetic conservation. Plant Today, Jan.-Feb., 12-17.
 THANGAVELU K., CHAKRABORTY A.K., BHAGOWATI A.K., ISA M. (1988) Handbook of Muga Culture. CSB Publication, Bangalore.

ETUDES SUR LA GERMINATION ET LA LONGEVITE DES GRAINES DE SOM (*MACHILUS BOMBYCINA*)

RAJA RAM, A.K. SENGUPTA & M. DEVNATH

Host Plant Section, Regional Muga Research Station, Boko - 781 123, Assam, Inde.

Des expériences ont été réalisées afin d'étudier la germination des graines de Machilus bombycina avec ou sans pulpe et la longévité des graines sans pulpe conservées sur de courtes périodes. Le pourcentage de germination est nettement plus élevé (84,75 %) chez les graines sans pulpe que chez les graines avec pulpe (53,5 %) au stade initial. Les graines avec pulpe ont une durée de germination plus longue. La longévité des graines sans pulpe diminue radicalement et passe de 84,75 % initialement à 40,5 % après un mois de conservation et à 5 % seulement après trois mois de conservation.

INTRODUCTION

Les graines de *Machilus bombycina* King, plante hôte du ver à soie muga, ont une durée de vie très courte (Chowdhry, 1981 ; Thangavelu et coll., 1988). Roberts (1989) a observé que les graines d'un certain nombre d'espèces comme la pomme, le citron et la prune, de cultures d'arbres et de fruits tropicaux d'intérêt économique, par exemple le cacao, le caoutchouc, la noix de coco et la mangue, ainsi que des cultures de bois de coupe, par exemple le chêne, le châtaignier et *Hopea* spp., ont des durées de vie limitées allant de quelques semaines à quelques jours.

Il n'existe pas d'information sur la germination des graines de *Machilus bombycina* King avec et sans pulpe. Cet aspect a donc été étudié en pépinière et la longévité des graines a été observée à intervalles réguliers sur des graines sans pulpe conservées pendant des périodes courtes.

MATERIELS ET METHODES

Des graines matures de Som ont été prélevées à la Ferme Muga d'Etat de Rasubalpara, Meghalaya, le 6 mai 1989. La germination des graines avec et sans pulpe a été étudiée sur 6 000 graines avec ou sans pulpe réparties en quatre réplicats. Les graines ont été semées à partir du 1er jour de prélèvement jusqu'au 15e jour comme l'indiquent les dates de semailles. Avant les semailles, les graines ont été trempées pendant 24 heures dans l'eau froide et on a isolé et retenu uniquement les graines viables flottant à la surface. Les graines des différents traitements ont été semées dans des litières de pépinières séparées. La longévité des graines a été testée en faisant germer les graines sans pulpe conservées dans des sacs en mousseline à température ambiante. Les contrôles de germination ont été réalisés à intervalles réguliers jusqu'à trois mois dans des litières contenant un milieu de racinement composé de terre, de sable et de fumier (1:1:1). Chaque traitement a été répété quatre fois avec 100 graines pour chaque réplicat.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I présente la germination des graines avec et sans pulpe après une brève période de conservation de 1 à 15 jours après le prélèvement. La germination des graines au 1er jour de prélèvement est de 53,5 % chez les graines avec pulpe contre 84,75 % chez les graines sans pulpe. Ce

tableau montre clairement qu'il existe une corrélation négative entre le pourcentage de survie ou de germination et le nombre de jours de conservation pour les deux traitements. Le pourcentage de germination (43,5 %) est plus élevé chez les graines sans pulpe que chez les graines avec pulpe même après 15 jours de conservation. Il se peut que les graines avec pulpe possèdent de faibles inhibiteurs de germination qui pourraient expliquer la germination médiocre et le retard de germination obtenus, comme le montre le tableau I. Une situation quasi identique a été observée par Bhagot et Singh (1989) chez les graines de *Prinsepia utilis*.

Les résultats concernant la longévité des graines après conservation sont présentés dans le tableau II. Les résultats obtenus montrent clairement que la viabilité des graines diminue très rapidement avec un pourcentage initial de germination de 84,75 % tombant à 5,0 % après une période de conservation de trois mois. Cette chute prononcée de la viabilité pourrait être due au fait que les graines ont un comportement réfractaire comme l'ont observé Bahuguna et Sood (1987) et Bhagot et Singh (*op. cit.*) chez *P. utilis*.

Cependant, si l'on souhaite développer des protocoles de conservation à long terme des graines d'intérêt économique et d'intérêt génétique, il est nécessaire de réaliser des études sur l'eau et la longévité des graines, la température et la longévité des graines, le séchage des graines et les modifications génétiques ainsi que sur les normes de régénération.

A NEW HOST PLANT OF THE MUGA SILKWORM, *ANTHERAEA ASSAMA* WW.

A. BARAH, MD. ISA, M. DEVNATH & M.V. SAMSON

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Mirza - 781 125, Assam, India.

Keywords : *Antheraea assama* Westwood, muga silkworm, *Cinnamomum glaucescens* Nees, polyphagous.

The muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., is an endemic sericigenous species of North Eastern India. Due to its golden coloured silk, it occupies a distinct position in the global sericultural map. It is a polyphagous insect having a wide range of host plants. So far, eleven species of host plants have been reported (Choudhury, 1981). Among them, *Machilus bombycina* and *Litsaea polyantha* are the primary host plants while *Litsaea citrata*, *L. salicifolia*, *L. nitida*, *Magnolia sphenocarpa*, *Actinodaphne obovata*, *Celastrus monosperma*, *Xanthoxylum rhesta*, *Gmelina arborea* and *Zizyphus jujuba* are considered as secondary.

In addition to the above, the muga silkworm was found feeding on a new host plant in two rearers' fields in Borahibari area of Sibsagar District (Assam) during October 1986. One rearer had brushed 3,500 muga silkworm larvae on this new plant and was able to harvest 2,000 cocoons, while the other rearer harvested 800 cocoons, brushing 1,500 larvae on two plants. Moreover, it was gathered from the local muga rearers of the area that during shortage of leaf, they are used to rear the muga silkworm larvae on this new plant. Further, to confirm and ascertain the preference of the new plant in relation to rearing of the muga silkworm, a rearing was conducted with 1,000 larvae exclusively on this new plant during November 1987. Comparative rearing data on the new plant and on *Machilus bombycina* in relation to the weight of mature larvae, effective rate of rearing, cocoon and shell weight and silk ratio percentage (Table I) did not reveal any significant differences, though the latter was found superior in respect of all the characters.

The plant is locally known as 'Gansoroi' and later identified as *Cinnamomum glaucescens* Nees. (syn. *Cinnamomum cecicodaphne* Meissn.), a member of the family Lauraceae by Dr S. Chowdhury, Dept. of Botany (Plant Taxonomy), Gauhati University, Assam.

C. glaucescens Nees. is a large tree of timber value. It is fairly distributed in Eastern Himalayas, Sikkim, Bhutan and throughout Assam province (Hooker, 1980 ; Kanjilal *et al.*, 1982).

This is the first report of *Cinnamomum glaucescens* Nees. as the host plant of the muga silkworm, *Antheraea assama*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Dr S. Chowdhury, Dept. of Botany, Gauhati University, Assam, for identifying the plant species.

Table I. Comparative rearing performance of the muga silkworm on *Cinnamomum glaucescens* and *Machilus bombycina*.Tableau I. Performances comparées de l'élevage du ver à soie muga sur *Cinnamomum glaucescens* et *Machilus bombycina*.

Food plant	No. of larvae brushed	Larval duration (days)	Weight of a full grown larva (g)	Effective rate of rearing (%)	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Silk ratio (%)
Plante hôte	Nombre de larves levées	Durée larvaire (jours)	Poids d'une larve mature (g)	Taux effectif d'élevage (%)	Poids d'un cocon (g)	Poids d'une coque (g)	Richesse soyeuse (%)
<i>Cinnamomum glaucescens</i>	1,000	29	8.529 ^{NS} ± 0.650	40.6	4.699 ^{NS} ± 0.213	0.2721 ^{NS} ± 0.0201	5.79 ^{NS} ± 0.315
<i>Machilus bombycina</i>	1,000	25	10.480 ± 1.255	45.9	5.480 ± 0.403	0.3420 ± 0.0242	6.22 ± 0.810

NS : Not significant / Non significatif.

REFERENCES

- CHOUDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, 21-23.
 HOOKER J.D. (1980) The Flora of British India. B.S.M. Pal Singh, Dehradun, 5, 135.
 KANJILAL U.N., KANJILAL P.C., DE R.N., DAS A. (1982) Flora of Assam. 4, 59.

UNE NOUVELLE PLANTE HÔTE DU VER À SOIE MUGA *ANTHERAEA ASSAMA* WW.

A. BARAH, MD. ISA, M. DEVNATH & M.V. SAMSON

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Mirza - 781 125, Assam, Inde.

Le ver à soie muga *Antheraea assama* Ww. est une espèce séricigène endémique du nord-est de l'Inde. En raison de sa soie de couleur dorée, il occupe une place particulière sur la carte séricicole générale. C'est un insecte polyphage qui bénéficie d'une grande variété de plantes hôtes. Jusqu'à présent, 11 espèces de plantes hôtes ont été identifiées (Choudhury, 1981). Parmi celles-ci, *Machilus bombycina* et *Litsaea polyantha* sont les plantes hôtes primaires tandis que *Litsaea citrata*, *L. salicifolia*, *L. nitida*, *Magnolia sphenocarpa*, *Actinodaphne obovata*, *Celastrus monosperma*, *Xanthoxylum rhesta*, *Gmelina arborea* et *Zizyphus jujuba* sont considérés comme des plantes hôtes secondaires.

Outre les espèces mentionnées ci-dessus, on a observé que le ver à soie muga se nourrissait sur une nouvelle plante hôte dans les champs de deux éleveurs de la région de Borahibari (District de Sibsagar, Assam) en octobre 1986. L'un des éleveurs a pu lever 3 500 larves de vers à soie muga sur cette nouvelle plante et récolter 2 000 cocons, tandis que l'autre a récolté 800 cocons et levé 1 500 larves sur deux plants. De plus, il ressort des discussions avec les éleveurs de vers à soie muga de cette région que, en période de pénurie de feuilles, ils élèvent communément le ver à soie muga sur cette nouvelle plante. Pour confirmer et évaluer la préférence de cette nouvelle plante dans l'élevage du ver à soie muga, un élevage a été réalisé avec 1 000 larves nourries exclusivement de cette plante en novembre 1987. Les données comparatives de l'élevage sur cette nouvelle plante et sur *Machilus bombycina* pour ce qui concerne le poids des larves matures, le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse (Tableau I) ne révèlent aucune différence significative, bien que *M. bombycina* donne des résultats supérieurs pour tous les caractères.

Cette plante est connue localement sous le nom de "Gansoroi" et a par la suite été identifiée par le Dr S. Chowdhury, Département de Botanique (taxinomie végétale), Gauhati University, Assam, comme étant *Cinnamomum glaucescens* Nees. (synonyme : *Cinnamomum cecicodaphne* Meissn.), membre de la famille des lauracés.

C. glaucescens Nees. est un grand arbre utilisé comme bois de coupe. Il est assez répandu dans l'Himalaya oriental, dans le Sikkim, le Bhutan et sur toute la province d'Assam (Hooker, 1980 ; Kanjilal et coll., 1982).

Cette note décrit pour la première fois l'observation de *Cinnamomum glaucescens* Nees. comme plante hôte du ver à soie muga, *Antheraea assama*.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.
- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.
- Remerciements.
- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11) Un bon de commande de tirés-à-part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés-à-part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

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

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

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

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

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.
- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.
- Acknowledgements.
- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.
