

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**

AKAPANTHU S. (Thaïlande / *Thailand*)
DEAULATON J. (France)
BECK D. (France)
BOSQUET G. (France)
CROIZIER G. (France)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / *India*)
DAS B.C. (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)
HORIE Y. (Japon / *Japan*)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde / *India*)
KOBAYASHI M. (Japon / *Japan*)
KRISHNASWAMY S. (Inde / *India*)
LEA H. Z. (Corée / *Korea*)

LEGAY J.-M. (France)
LIU S.-X. (Chine / *China*)
LU H.-S. (Chine / *China*)
MANO Y. (Japon / *Japan*)
MAUCHAMP B. (France)
PERSOONS C.J. (Pays-Bas / *The Netherlands*)
PRUDHOMME J.-C. (France)
REALI G. (Italie / *Italy*)
SHIMURA K. (Japon / *Japan*)
SHIRATA A. (Japon / *Japan*)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / *India*)
SONWALKAR T.N. (Inde / *India*)
TAKAHASHI R. (Brésil / *Brazil*)
TAZIMA Y. (Japon / *Japan*)
TRENCZEK T. (Rép. tchèque / *Czech Republic*)
VAGO C. (France)
VEY A. (France)
XIA J.-G. (Chine / *China*)
YAMASHITA O. (Japon / *Japan*)
YANAGAWA H. (Japon / *Japan*)

SOMMAIRE - CONTENTS

Articles scientifiques / Scientific articles

- Isolation of a self-bred line of *Bombyx mori* L. by means of dispermic androgenesis** . 199
 Isolement d'une lignée auto-féconde de *Bombyx mori* L. obtenue par androgénèse
 dispermique 205

A.-Y. XU, M.-W. LI, A. FANG, M.-H. FEI & J.-T. HUANG

- Detection of *Nosema bombycis* infection in the silkworm, *Bombyx mori*, by Western blot analysis** 209

Détection de l'infestation par *Nosema bombycis* chez le ver à soie *Bombyx mori* par
 analyse en immunoeempreinte 217

A. SIRONMANI

- Effect of radiation on the activity of digestive enzymes in the silkworm, *Bombyx mori* L.** 221

Effets de la radiation sur l'activité des enzymes digestives du ver à soie, *Bombyx mori* L. 232

B. LAKSHMI KUMARI, S.R. ANANTHANARAYANA & JAYAPRAKASH

- Studies on the mechanism of mulberry resistance to the mulberry yellow dwarf disease** 233

Etudes sur le mécanisme de résistance du mûrier à la maladie du nanisme jaune 241

Y.-Z. KUAI, F.-P. ZHU, Z.-S. XIA & P.-G. CHEN

- Effect of ringing on the propagation of mulberry cuttings** 245

Effets du baguage sur la multiplication de boutures de mûrier 249

A. TIKADER, K. VIJAYAN, R.N. DUTTA, B.N. ROY & T. PAVAN KUMAR

- Seasonal variation of the foliar constituents of the primary food plants of the muga silkworm (*Antheraea assama* WW.)** 251

Variations saisonnières des constituants foliaires des plantes nourricières du ver à soie
 muga (*Antheraea assama* ww.) 259

D.K. SHARMA & D. DEVI

- A study on the progressive change in characteristics of the bave (filament) along its length in mulberry and tasar cocoons** 263

Etude des changements progressifs des caractéristiques de la bave (filament) sur sa
 longueur pour les cocons du tasar et du mûrier 271

R. CHATTOPADHYAY, S. DAS, M.L. GULRAJANI & K. SEN

Rapports techniques / Technical reports

- Breeding of a mulberry artificial triploid variety, Dazhonghua** 275

Lignage d'une variété de mûrier artificielle triploïde, le Dazhonghua 283

J.H. YANG, X.-H. YANG & C.-J. LUO

- Terminalia* (section: Pentaptera) descriptor** 289

Descripteur du genre *Terminalia* (branche: Pentaptera) 301

P.K. SRIVASTAV, D.P. SRIVASTAV & K. THANGAVELU

Evaluation of a winter pruning schedule for mulberry gardens in South Bihar	305
Evaluation d'un programme de taille hivernal pour les muraies du Bihar du Sud	313
J. JAYASWAL, S.K. GANGWAR, B.D. SINGH, A.K. ROY, P.S. SINHA, M.K. SINGH & P.K. MISHRA	

Resource use efficiency in agriculture — a comparative analysis of sericulture and non-sericulture farms	317
Efficacité de l'utilisation des ressources en agriculture : analyse comparative des exploitations séricicoles et non séricicoles	323
R. MATTIGATTI & M.N.S. IYENGAR	

Comparative assessment of characteristics of raw silk by seriplane test and Uster evenness tester	327
Evaluation comparative des caractéristiques de la soie grège par essai sur sériplane et sur un appareil de contrôle de régularité Uster	333
S.L. CHILAKWAD, B.V. VASUMATHI, B.N. LAKSHMIPATHAIAH & G.S. NADIGER	

Notes brèves / Brief notes

Studies on the antigenic difference of Kenchu viruses isolated from the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., in Karnataka, India	337
Etudes sur la différence antigénique de virus Kenchu isolés du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L., au Karnataka, Inde	341
C.S. PATIL, K.D. SPENCE, S. GURUSIDDAIAH & T.R. KYRIAKIDES	

Studies on stigma receptivity in mulberry (<i>Morus</i> spp.)	343
Etude sur la réceptivité des stigmates chez le mûrier (<i>Morus</i>)	347
K. VIJAYAN, A. TIKADER, B.N. ROY, S.M.H. QADRI & T. PAVAN KUMAR	

<i>In vitro</i> pollen germination in <i>Morus indica</i> L.	349
Germination <i>in vitro</i> du pollen chez <i>Morus indica</i> L.	353
S. MONDAL, K.N. BHATTACHARYA & S. MANDAL	

<i>Xanthochelus Faunus</i> (Coleoptera: curculionidae), a new record of insect damaging <i>Terminalia arjuna</i> Bedd. and <i>Terminalia tomentosa</i> W. & A.	355
Rapport sur un nouvel insecte nuisible pour <i>Terminalia arjuna</i> Bedd. et <i>Terminalia tomentosa</i> W. & A. : <i>Xanthochelus faunus</i> (Coleoptera: curculionidae)	357
P.K. MISHRA & J. JAYASWAL	

Essential oil of <i>Litsea salicifolia</i> Roxb. ex Wall., — a new report from Assam, India	359
Une nouvelle huile essentielle de <i>Litsea salicifolia</i> Roxb. ex Wall. provenant de l'Assam (Inde)	363
S.N. CHOUDHURY, M. CHOUDHURY, A.C. GHOSH & P.A. LECLERCQ	

Bibliographie / Bibliography	367
---	------------

Instructions aux auteurs / Information for contributors

ISOLATION OF A SELF-BRED LINE OF *BOMBYX MORI* L. BY MEANS OF DISPERMIC ANDROGENESIS

XU A.-Y., LI M.-W., FANG A., FEI M.-H., HUANG J.-T.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018,
China.

Female pupae were irradiated with 80 KR γ -rays before emergence to make their egg-nuclei lose activity. The female moths were crossed to normal males of test varieties. Their eggs were treated with hot water. All developed silkworms only expressed paternal characters, which indicated that the offspring of individual dispermic androgenesis came from one male silkworm. Only progeny of individual dispermic androgenetic male moths was again generated by means of individual dispermic androgenesis. By repeating this for many generations, the self-bred lines of silkworm finally were formed. This method will shorten the course of fixation of the genotype and significantly improve the efficiency of selection in silkworm breeding. Now, the percentage of homogeneity that we have obtained in these self-bred lines has reached 99%.

Keywords: *Bombyx mori* L., self-bred line, dispermic androgenesis.

INTRODUCTION

Control of sex in the mulberry silkworm is an important topic for sericulturists in theory and practice. As is well known, the male silkworm has higher viability than the female, and it consumes fewer mulberry leaves to produce the same amount of silk (Xia and Tang, 1980). That is, the silk yield of males turns out to be 20% higher than that of females because the latter use more energy to produce eggs (Xiang *et al.*, 1982). Therefore, it is estimated that 10-15% more silk can be obtained if only male silkworms are reared (Huang, 1980).

Since Hasimoto (1934) found that androgenetic silkworms could be obtained by using heat treatment, Astaurov (1947), Strunnikov (1983), Tazima and Onuma (1967), Li (1983) and many other scientists have tried to induce androgenetic silkworms by using higher or lower temperature, CO₂, irradiation and other inductive agents. We have studied induction of silkworm androgenesis since 1984 and have taken a step further in studying the mechanism of androgenesis (Xu *et al.*, 1988).

On the basis of our studies on androgenesis, we have succeeded in self-fertilization by means of dispermic androgenesis, and have established several self-bred lines to shorten the course of breeding and improve its efficiency by means of selfing and self-bred lines. We attempted to have silkworm progeny in succession using the method of dispermic androgenesis with individual male moths and initially set up several silkworm self-bred lines. Among them, the silkworm races W₃₁₇ and 54A have been maintained by selfing for 9 generations in succession, and Daizo has been maintained by selfing for 8 generations. These self-bred lines are composed of male silkworms. In addition, the establishment of a bisexual self-bred line is under way.

MATERIALS AND METHODS

1. Silkworm varieties:

W₃₁₇, 54A, Daizo, (Su₅ × Su₆) F₁, Su₅, Su₆, Gaohua, 107, Wulin, T₃₅, Guizhou, ch/ch (chocolate skin of newly hatched larvae, recessive to black newly hatched larvae), re/re (dark-red eyes and red eggs, recessive to normal black eyes and eggs), pe/pe (pink eyes and pink eggs, recessive to normal black eyes and eggs).

2. Method of generation:

Female pupae were irradiated with 80 KR γ -rays 2-3 days before emergence. The female moths were crossed to normal males of test varieties (54A, W₃₁₇, Daizo, etc.). Oviposition took place at 25 °C, at 80 min. of age, the eggs were treated at 38 °C for 200 min., and then kept at 25 °C until hatching. The progeny of each male moth were reared as a single batch; each male moth was generated by means of individual androgenesis. Each generation was treated with this method, and a pedigree was set up.

3. Multiple cross:

Each irradiated female moth was mated with several males of different varieties one after another (each male had a different visible morphological marker gene), and the phenotype of its progeny was observed.

4. Method of investigation:

The ratio of developmental eggs (pigmentary eggs), bluish eggs, hatching eggs of androgenetic silkworms was investigated, and the characteristics of androgenetic silkworms were observed.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Androgenesis in the silkworm:

According to Mendelian inheritance, the offspring expressed the dominant black colour in newly

Table I. Silkworm androgenesis using marker gene for colour of eggs and hatched larvae.

Tableau I. Androgénèse chez le ver à soie à l'aide d'un gène marqueur pour la couleur des œufs et des larves néonates.

Batches	Female phenotype		Male phenotype		Offspring phenotype		
	Egg colour	Larva colour	Egg colour	Larva colour	Egg colour	Larva colour	Sex
<i>Lots</i>	<i>Phénotype femelle</i>		<i>Phénotype mâle</i>		<i>Phénotype des descendants</i>		
	<i>Couleur des œufs</i>	<i>Couleur des larves</i>	<i>Couleur des œufs</i>	<i>Couleur des larves</i>	<i>Couleur des œufs</i>	<i>Couleur des larves</i>	<i>Sexe</i>
Su ₅ · Su ₆ × ch/ch	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	brown <i>marron</i>	red <i>rouge</i>	brown <i>marron</i>	red <i>rouge</i>	male <i>mâle</i>
Su ₅ · Su ₆ × pc/pc	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	pink <i>rose</i>	black <i>noir</i>	pink <i>rose</i>	black <i>noir</i>	male <i>mâle</i>
Su ₅ · Su ₆ × re/re	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	red <i>rouge</i>	black <i>noir</i>	red <i>rouge</i>	black <i>noir</i>	male <i>mâle</i>
T ₃₅ × ch/ch	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	brown <i>marron</i>	red <i>rouge</i>	brown <i>marron</i>	red <i>rouge</i>	male <i>mâle</i>
T ₃₅ × pc/pc	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	pink <i>rose</i>	black <i>noir</i>	pink <i>rose</i>	black <i>noir</i>	male <i>mâle</i>
T ₃₅ × re/re	brown <i>marron</i>	black <i>noir</i>	red <i>rouge</i>	black <i>noir</i>	red <i>rouge</i>	black <i>noir</i>	male <i>mâle</i>

hatched larvae when (Su5 × Su6) F₁ females (+^{ch}/+^{ch}) were crossed with ch/ch males. However, the offspring larvae expressed only a reddish colour (ch phenotype) when irradiated (Su5 × Su6) F₁ females were used to mate with untreated ch males. Furthermore, it was found that the offspring of the other experimental batches expressed their father's recessive characters. The details are listed in Table I.

From the consistent expression of recessive characters in the F₁ offspring, it was presumed that the nuclei may lose viability after irradiation. Then, the penetrated sperm nuclei fused and developed into a mature diploid silkworm. Consistent with this hypothesis, it is demonstrated that all developed larvae obtained by this method were males which expressed only their father's genetic characteristics.

2. Fusion of sperm nuclei from different silkworm varieties:

Kawaguchi (1926) showed that several sperms can enter an egg during oviposition fertilization in the silkworm. We found that an androgenetic silkworm may come from the fusion of homo-sperms (same variety) or hetero-sperms (different variety). The latter situation is called bipaternal androgenesis. Figure 1 shows the fusion of homo-sperms in situations a), b) and c) and the fusion of hetero-sperms in situations d), e) and f).

By using similar bipaternal androgenesis technology, Strunnikov (1958) constructed a silkworm line balanced for two non-allelic Z lethals.

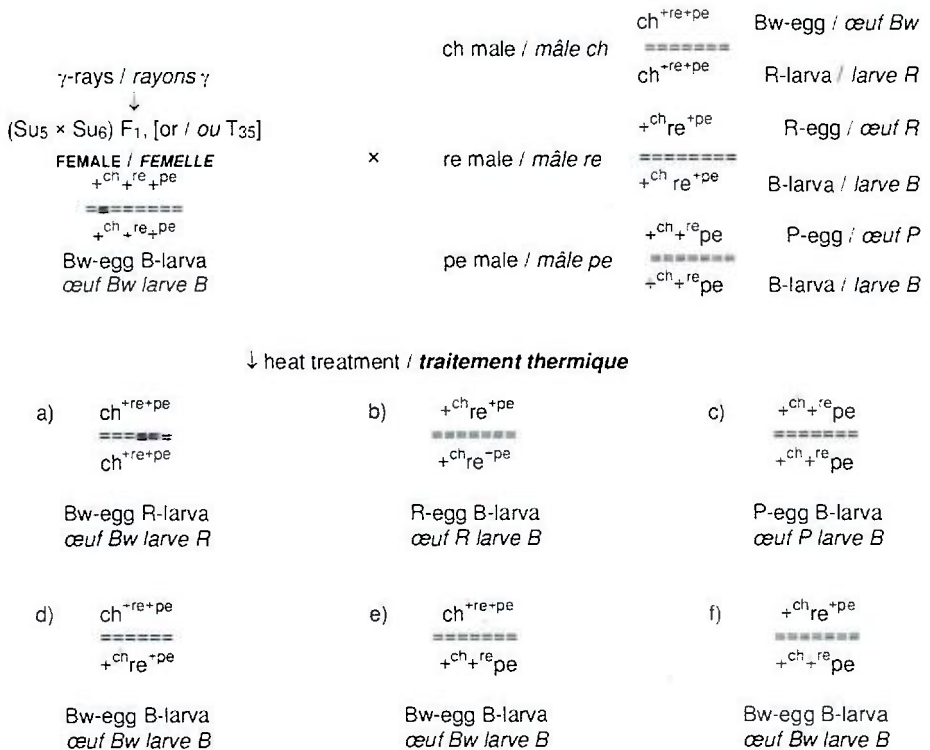


Fig. 1: Genotype and phenotype of androgenetic offspring.

Fig. 1 : Génotype et phénotype des descendants androgènes.

B: black / noir. Bw: brown / marron. R: red / rouge. P: pink larva = newly hatched silkworm / larve rose = larve néonate.

3. Ratio of androgenetic silkworm development:

Table II shows that when treated layings were held at 40 °C for 130 min., the ratio of androgenetic development was very low, for example the hatchability of batches from irradiated 'Su₅ · Su₆' female × 'ch male/re male/pe male' and irradiated 'T₃₅' female × 'T₃₅' male was less than 1%. When treated layings were held at 38 °C for 200 min., the ratio of androgenesis was raised dramatically: the egg bluish percentage and hatchability of the cross 'Ghizhou' female × 'Daizo' male reached 61.99% and 19.32%, respectively. For example, the bluish percentage and hatchability reached 46.15% and 8.58% respectively for heat-treated batches of irradiated 'T₃₅' females × normal 'Wulin' males and were only 1.54% and 0%, respectively, if the layings were kept at normal temperature.

Table II. Silkworm androgenetic development under different temperature treatments.

Tableau II. Développement androgénétique du ver à soie en fonction de différents traitements de température.

Batches	Heat treatment		Total number of eggs	Hatching number	Hatching (%)	Pigmentation (%)	Bluish eggs (%)
	°C	min.					
Lots	Traitement thermique		Nombre total d'oeufs	Ecllosion (nombre)	Ecllosion (%)	Pigmentation (%)	Oeufs bleus (%)
	°C	mn.					
Su ₅ · Su ₆ × ch/ch* re/re* pe/pe*	40	130	18006	164	0.91	60.71	35.24
T ₃₅ × ch/ch* re/re* pe/pe*	40	130	14406	821	5.69	67.00	40.95
107. Guaohua × Su ₅ × Su ₆	40	130	28560	2453	9.25	68.33	49.27
107. Guaohua × Su ₅ × Su ₆	38	200	30360	4658	15.34	76.56	56.38
Guizhou × Daizo	38	200	6304	1218	19.32	78.74	61.99
T ₃₅ × Daizo	38	200	7153	1024	14.31	75.28	58.76
T ₃₅ × T ₃₅	38	200	18265	416	2.27	76.32	31.22
T ₃₅ × T ₃₅	40	130	22289	191	0.85	77.56	22.29
T ₃₅ × Wulin	38	200	9476	814	8.58	70.41	46.15
T ₃₅ × Wulin-I	No treatment Sans traitement		5713	0	0	2.08	1.54

* Androgenetic silkworm development from hetero-sperms.

* Développement de vers à soie androgènes à partir d'hétéro-spermes.

In addition, the results showed that the pigmentation percentage and hatchability of the androgenetic silkworms varied with silkworm races (maternal and paternal), other conditions being equal. For example, uniformly high success was achieved in batches of irradiated 'T₃₅' females × normal 'Wulin' males, as shown in Table II.

4. At individual dispermic androgenesis, the sperm that penetrated the eggs was from a single father, and the progeny obtained were from the fusion of its sperm, the father itself being produced by selfing of a male silkworm. Progeny of individual dispermic androgenetic male moths were again generated by means of individual dispermic androgenesis. By repeating this for many generations, the self-bred lines finally were formed. The normal line of our test silkworm variety, W₃₁₇, carries a sex-limited marking: the female silkworm carries the normal marking (+^P) and the male is plain (p). The progeny of the W₃₁₇ self-bred line which was generated by the method of successive individual dispermic androgenesis were plain. Moreover, their duration of development and other characters were similar to those of the males of normal W₃₁₇ line. Under the same conditions, the male silkworms of 54A, Daizo self-bred lines were similar to the males of normal 54A or Daizo lines (Table III).

Table III. Characteristics of some silkworm self-bred lines.

Tableau III. Caractéristiques de certaines lignées de vers à soie obtenues par auto-reproduction.

Varieties	Duration of all instars	Duration of the 5th instar	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Shell percentage
Variétés	Durée du stade larvaire	Durée du 5e âge	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
W ₃₁₇ SbL	23d + 6h	7d + 6h	1.536	0.397	24.67
W ₃₁₇ *	23d + 6 h	7d + 6 h	1.777	0.443	24.91
54A SbL	23d + 12 h	7 d + 6 h	1.637	0.397	24.25
54A*	24d	7d + 12 h	1.721	0.415	24.13
Daizo SbL	22d	6d + 12h	0.916	0.130	14.19
Daizo*	21d + 23 h	6d + 10h	0.977	0.143	14.64

* Normal silkworm variety / Variété de ver à soie normale.

d: Days / Jours, h: hours / heures, SbL: Self-bred line / Lignée obtenue par auto-reproduction.

5. Because the silkworm is a gonochoristic insect, we normally fix characters in hybrids or make the hybrid relative homozygous by the sib method of breeding in succession. In the future, we suggest that desired male silkworms could be generated through selfing, which would shorten the course of fixation of the genotype and significantly improve the efficiency of selection. The desired females could be generated by means of ameiotic parthenogenesis (AMP) (Strunnikov, 1983; Fang *et al.*, 1989), and their genotypes could be fixed all at once. Especially during silkworm breeding, or collection and conservation of genetic resources, if only one male or female silkworm expressed the required character, for example, disease resistance, high silk production, long cocoon filament length, etc., the male selfing and female AMP could be carried out, and we could obtain a group of individuals whose genotypes were identical or slightly different. As a test of this idea, self-bred lines were obtained by single male batch rearing and individual male selfing in succession. AMP females of the same variety were mated with males of the self-bred line in succession, and we obtained bisexual self-bred lines of silkworms after many generations, which are similar to isogenic or nearly isogenic lines. The

percentage of homogeneity that we have obtained in these self-bred lines has reached or exceeded 99% (using 50% heterotype as the starting point).

REFERENCES

- ASTAUROV B.L. (1947) Experimental evidence of the absence of direct effect of X-rays on the cytoplasm of a living cell, Doklady. AN SSR, Reports Acad. Sci. USSR, 58(5), 887-890.
- FANG A., XU A.-Y., CHEN S.-Q., HUANG J.-T. (1989) Studies on the chromosome engineering and its application in *Bombyx mori*. IV. Studies on the parthenogenesis in the silkworm. Acta Sericologica Sinica, 15 (4), 202-205.
- HASIMOTO H. (1934) Formation of individual by the union of two sperm nuclei in the silkworm. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 8(10), 455-464.
- HUANG J.-T. (1980) Studies on sex control in the silkworm (*Bombyx mori*). Hereditas, 2(2), 1-5.
- KAWAGUCHI E. (1926) Polyspermy in *Bombyx mori* L. Sangyo Slimpo, 34, 38-41.
- LI W.-Q. (1983) Induction of the Androgenetic Silkworm Eggs and Ovogenesis by Means of Dry Ice (CO₂). The Japanese Soc. Sericult. Sci., 53rd An. Meeting, Tokyo, p. 53.
- STRUNNIKOV V.A. (1958) Obtaining of bi-parental androgenetic hybrids in the silkworm, Doklady. AN SSR, Reports USSR Acad. Sci., 122(3), 516-519.
- STRUNNIKOV V.A. (1983) Control of Silkworm Reproduction, Development and Sex. MIR Publishers, Moscow, pp. 70-92.
- TAZIMA Y., ONUMA A. (1967) Experimental induction of androgenesis, gynogenesis and polyploidy in *Bombyx mori* by treatment with CO₂ gas. J. Sericult. Sci. Japan, 36(4), 428.
- XIA J.-G., TAN W.-Y. (1980) Studies on the relationship between economical character and sex in the silkworm. Acta Sericologica Sinica, 6(3), 167-172.
- XIANG M.-H., ZHUANG D.-H., HE J.-L. (1982) Studies on some physiological specific properties of male and female in silkworm. Acta Sericologica Sinica, 8(1), 20-25.
- XU A.-Y., FANG A., HUANG J.-T. (1988) Studies on the chromosome engineering and its application in *Bombyx mori* L. III. Induction of androgenetic silkworm. Acta Sericologica Sinica, 14(2), 93-96.

ISOLEMENT D'UNE LIGNEE AUTO-FECONDE DE *BOMBYX MORI* L. OBTENUE PAR ANDROGENESE DISPERMIQUE

XU A.-Y., LI M.-W., FANG A., FEI M.-H. & HUANG J.-T

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Zhenjiang 212018, Chine.

Nous avons irradié avec des rayons γ à 80 KR des chrysalides femelles avant l'émergence pour que les noyaux des oeufs perdent leur activité. Les papillons femelles ont été croisés avec des mâles normaux de variétés témoins. Leurs oeufs sont traités avec de l'eau chaude. Tous les vers à soie ne présentent que des caractéristiques paternelles, ce qui indique que la descendance obtenue par androgénèse individuelle et dispermique vient d'un ver à soie mâle. Il n'est engendré à nouveau par androgénèse dispermique et individuelle que des papillons mâles provenant d'une androgénèse individuelle dispermique. En répétant cela pendant plusieurs générations, des lignées de vers à soie auto-reproduites se sont finalement formées. Cette méthode raccourcit la période de fixation du génotype et permet d'améliorer considérablement l'efficacité de la sélection pour la reproduction des vers à soie. A présent, le pourcentage d'homogénéité obtenu avec ces lignées auto-reproduites atteint 99 %.

INTRODUCTION

Le contrôle du sexe chez le ver à soie du mûrier est un sujet important pour les sériciculteurs en pratique et en théorie. Le ver à soie mâle, ainsi qu'on le sait, est plus viable que la femelle et consomme moins de feuilles de mûrier pour une production de soie de quantité égale (Xia et Tang, 1980). La richesse soyeuse des mâles s'avère être, en effet, supérieure de 20 % à celle des femelles parce que celles-ci utilisent plus d'énergie pour produire leurs oeufs (Xiang et coll., 1982). On estime donc que l'on peut produire 10 à 15 % supplémentaires de soie si l'on n'élève que des vers à soie mâles (Huang, 1980).

Depuis que Hasimoto (1934) a découvert que l'on peut obtenir des vers à soie androgénétiques grâce au traitement par la chaleur, Astaurov (1947), Strunnikov (1983), Tazima et Onuma (1967), Li (1983) et de nombreux autres scientifiques ont essayé d'obtenir des vers à soie androgénétiques en utilisant des températures basses ou élevées, du CO₂, des rayonnements ou d'autres agents inducteurs. Nous avons étudié l'induction de l'androgénèse chez le ver à soie depuis 1984 et nous avons été plus loin en nous penchant sur l'étude du mécanisme de l'androgénèse (Xu et coll., 1988).

Sur la base de nos études sur l'androgénèse, nous avons réussi l'auto-fécondation par androgénèse dispermique, et avons mis au point plusieurs lignées auto-fécondes pour raccourcir la période d'élevage et améliorer son efficacité par l'autofécondation et par la production de lignées auto-fécondes. Nous avons essayé d'obtenir des descendance de vers à soie successives en utilisant la méthode d'androgénèse dispermique avec des papillons mâles individuels et avons mis au point au départ plusieurs lignées auto-reproduites. Parmi elles, les races de ver à soie W₃₁₇ et 54A ont été maintenues par autofécondation pendant 9 générations successives et Daizo a été maintenue par autofécondation pendant 8 générations. Ces lignées auto-reproduites sont composées de vers à soie mâles. De plus, une lignée bisexuelle auto-reproduite est en train d'être mise au point.

MATERIELS ET METHODES

1. Variétés de vers à soie :

W₃₁₇, 54A, Daizo, F₁(Su₅ × Su₆), Su₅, Su₆, Gaohua, 107, Wulin, T₃₅, Guizhou, ch/ch (la peau chocolat des larves néonates, récessifs par rapport aux larves noires néonates), re/re (yeux rouge foncé, oeufs rouge, récessifs), pe/pe (yeux rose, oeufs rose, récessifs).

2. Méthode de genèse :

Les chrysalides femelles sont été irradiées avec des rayons γ (KR 80) 2 à 3 jours avant l'émergence. Les papillons femelles sont croisés avec des mâles normaux de variétés témoins (54A, W₃₁₇, Daizo, etc.). La ponte a lieu à 25° C après 80 minutes, les oeufs sont traités à 38° C pendant 200 minutes et sont ensuite conservés à 25° C jusqu'à l'éclosion. La descendance de chaque papillon mâle est élevée indépendamment ; chaque papillon mâle est engendré par androgénèse individuelle. Chaque génération est traitée par cette méthode, et un nouveau pedigree est créé.

3. Croisement multiple :

Chaque papillon femelle irradié est accouplé avec plusieurs mâles de variétés différentes l'un après l'autre (chaque mâle a un gène marqueur morphologique différent et visible) et le phénotype de sa descendance est observé.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Androgénèse chez le ver à soie :

En fonction des lois mendéliennes, les descendants présentent la couleur dominante noire chez les larves néonates quand les femelles F₁ (Su₅ × Su₆), (+^{ch}/+^{ch}) sont croisées avec des mâles ch/ch. Cependant, les larves descendantes n'expriment qu'une couleur rougeâtre (phénotype ch) quand les femelles F₁ (Su₅ × Su₆) irradiées sont accouplées avec les mâles ch non traités. De plus, on observe que les descendants des autres lots expérimentaux expriment les caractères récessifs de leurs pères. Les données sont présentées dans le tableau 1.

D'après l'expression des caractères récessifs chez les descendants F₁, nous supposons que les noyaux femelles périssent après irradiation et que les noyaux spermatiques (mâles) ayant pénétré, fusionnent et se développent en vers à soie adultes diploïdes. Le fait que toutes les larves formées obtenues par cette méthode sont des mâles qui expriment seulement les caractéristiques génétiques de leurs pères est en accord avec cette hypothèse.

2. Fusion des noyaux spermatiques de différentes variétés de vers à soie :

Kawaguchi (1926) a montré que plusieurs spermatozoïdes peuvent pénétrer un oeuf pendant la fécondation chez le ver à soie. Nous avons découvert qu'un ver à soie androgénique peut provenir de la fusion d'homo-spermes (même variété) ou d'hétéro-spermes (variété différente). Cette dernière situation est appelée androgénèse bi-paternelle. La figure 1 montre la fusion d'homo-spermes dans les situations a), b) et c) et la fusion d'hétéro-spermes dans les situations d), e) et f). En utilisant une technologie d'androgénèse bi-paternelle similaire, Strunnikov (1958) a construit une lignée balancée pour deux gènes létaux Z non alléliques.

3. Ratio androgénétique chez le ver à soie :

Le tableau II montre que lorsque les pontes traitées sont maintenues à 40° C pendant 130 minutes, le ratio de développement androgénétique est très bas, par exemple le taux d'éclosion chez les lots correspondant aux croisements de femelles 'Su₅, Su₆' irradiées par des mâles ch, des mâles re, des mâles pe et de femelles 'T₃₅' irradiées par des mâles T₃₅ est inférieur à 1 %. Quand les pontes traitées sont maintenues à 38° C pendant 200 minutes, le ratio d'androgénèse augmente considérablement : le taux d'oeufs bleu et d'éclosion du croisement femelle « Ghizou » par mâle « Daizo » atteint respectivement 61,99 % et 19,32 %. Si les pontes traitées sont gardées à température normale, les oeufs ne peuvent pas se développer jusqu'à l'éclosion. Par exemple, le pourcentage d'oeufs bleu et d'éclosion atteint respectivement 46,15 % et 8,58 % pour les lots obtenus par croisements de femelles

'T35' irradiées par des mâles normaux « Wulin » traités thermiquement et n'est respectivement que de 1,54 % et de 0 %, si les pontes sont conservées à température normale.

De plus, les résultats montrent que les pourcentages de pigmentation et d'éclosion des vers à soie androgénétiques varient selon les races de vers à soie (maternelles et paternelles), les autres conditions restant égales. Par exemple, une grande réussite a été uniformément obtenue dans les lots de femelles 'T35' × des mâles normaux 'Wulin', ainsi qu'il est montré dans le Tableau II.

4. Pendant l'androgénèse individuelle dispermique, le sperme qui pénètre les oeufs vient d'un père unique, et la descendance obtenue résulte de la fusion de son père, le père lui-même provenant de l'auto-fécondation d'un ver à soie mâle. La descendance de papillons mâles provenant d'une androgénèse dispermique individuelle est à son tour engendrée par androgénèse individuelle dispermique. Les lignées obtenues par auto-reproduction se sont formées en répétant cela pendant plusieurs générations. La lignée normale de notre variété de vers à soie test, W₃₁₇, présente un marquage limité du sexe : le ver à soie femelle porte le marquage normal (+^p) et le mâle est sans marquage (p). La descendance de la lignée W₃₁₇ obtenue par auto-reproduction produite par la méthode d'androgénèse individuelle dispermique successive ne présente pas de marquage. De plus, la durée de leur développement et d'autres caractéristiques sont semblables à celles des mâles de la lignée W₃₁₇ normale. Dans les mêmes conditions, les vers à soie mâles des lignées 54A et Daizo obtenues par auto-reproduction sont semblables aux mâles des lignées 54A et Daizo normales (Tableau III).

5. Parce que le ver à soie est un insecte gonochoristique, on fixe les caractéristiques chez les hybrides ou l'on rend les parents de l'hybride homozygote par la méthode de croisement frères-soeurs successifs. A l'avenir, nous suggérons que pour obtenir des vers à soie mâles on pourrait utiliser l'auto-reproduction, ce qui raccourcirait la période de fixation du génotype et améliorerait l'efficacité de la sélection. Les femelles pourraient être obtenues par parthénogenèse améiotique (AMP) (Strunnikov, 1983; Fang et al., 1989), et leurs génotypes pourraient être fixés tous en même temps. Si un seul ver à soie mâle ou femelle exprime le caractère désiré, par exemple la résistance à une maladie, un rendement de soie élevé, une grande longueur de filament de cocon, etc..., surtout pendant les lignages ou le rassemblement ou la conservation des ressources génétiques, l'auto-reproduction du mâle et la parthénogenèse améiotique de la femelle pourraient être utilisées pour obtenir un groupe d'individus dont les génotypes seraient identiques ou légèrement différents. Pour tester cette idée, nous avons produit des lignées auto-reproduites en élevant un lot de vers à soie mâles unique par auto-reproductions individuelles de mâles successives. Les femelles parthénogénétiques de la même variété ont été accouplées avec des mâles de la lignée auto-reproduite tour à tour, ce qui a permis l'obtention de lignées autoreproduites bisexuelles de vers à soie après de nombreuses générations, qui sont semblables à des lignées isogéniques ou à des lignées presque isogéniques. Le pourcentage d'homogénéité que nous obtenons pour ces lignées autoreproduites atteint ou dépasse 99% (en utilisant un hétérotype de 50 % comme point de départ).

DETECTION OF NOSEMA BOMBYCIS INFECTION IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*, BY WESTERN BLOT ANALYSIS

A. SIRONMANI

School of Biotechnology, Madurai Kamaraj University, Madurai - 625 021, Tamil Nadu, India.

A Western blot method has been developed to identify the microsporidian Nosema infection in Bombyx mori. Polyclonal antibodies were raised for Nosema spore proteins in rabbits. The immunological reaction with Nosema-infected silkworm larvae and eggs shows the presence of a 17 kD polypeptide which seems to be specific for infection. The batch of eggs showing the 17 kD polypeptide in Western blot analysis resulted in 80% mortality at the end of the fifth instar and 20% after spinning cocoons. The samples collected from the batch of rearing which resulted in complete mortality also showed the 17 kD polypeptide. This 17 kD polypeptide can be used as a virulent marker for the identification of microsporidian infection.

Keywords: *Nosema bombycis*, silkworm, *Bombyx mori*, Western blot analysis, immunodiagnosics.

INTRODUCTION

The microsporidian, *Nosema bombycis*, is the causative agent of the pebrine disease in the silkworm, *Bombyx mori*. Infections range from chronic to highly virulent and can result in a complete loss to the sericulture industry. The identification of microsporidian parasites has been based on morphological characters observed under light microscopy by highly trained technicians. The recent discovery of morphologically distinct developmental sequences (dimorphism) in microsporidia poses difficulties in identification (Cali, 1971).

The results obtained by the use of the indirect fluorescent antibody technique (Fujiwara *et al.*, 1966; Sato *et al.*, 1981) and indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Kawarabata and Hayasaka, 1987) suggest that these methods could be used to detect the microsporidian in its spore stage. However, it is difficult to apply these techniques routinely, since the large particulate type antigens such as microsporidian spores do not bind strongly to the assay plate. Hayasaka and Ayuzawa (1987) and Baig *et al.* (1992) developed a slide agglutination test for microsporidian spores by using antibody-sensitized latex beads. However, these have not proved to be totally satisfactory as there was no discrete difference between infected and uninfected.

The objective of the present study was to develop a specific method to identify the microsporidian infection in silkworms by using polyclonal antibodies for the infection-specific polypeptide of *Nosema bombycis*. This method would be useful not only to identify *Nosema bombycis* in its spore stage but also in its vegetative stage of the life cycle. This would aid the sericulture industry in detecting pebrine at an early stage of infection and would improve the quality and quantity of silk.

MATERIALS AND METHODS

Microsporidian spores were collected from the State Granary Centre (Hosur, Tamil Nadu, India) and were propagated in second instar larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, by feeding mulberry leaves contaminated with spores (10^4 spores/ml). Spores were isolated after two weeks by homogenizing the larvae in phosphate buffer (0.2 M, pH 7.5) and filtering through cheese cloth. Spores

were purified by the method of Sato and Watanabe (1980), counted using a hemocytometer and stored at 4 °C in phosphate buffer at a concentration of 10^9 spores/ml.

Preparation of polyclonal antibodies:

Antiserum was raised against heat-killed total *Nosema* spores in adult white rabbits. Purified spores (10^9 /ml) were heated at 65 °C for 10 min. and mixed with an equal volume of Freund's complete adjuvant. Subcutaneous injections were given on days 0, 7, 14 and 28, the animal was bled on the 35th or 40th day after test bleeding. The specificity and titre were checked by double immunodiffusion and immunoprecipitation.

Immunoprecipitation of spore proteins:

Nosema spores were solubilized in bicarbonate buffer (50 mM sodium bicarbonate, pH 8.3, 25 mM dithiothreitol) at 37 °C for 1-3 hours and immunoprecipitated with spore polyclonal antiserum at 4 °C overnight. The immunoprecipitated proteins were washed in cold phosphate buffer and run on 12.5% SDS PAGE.

Preparation of egg samples:

Ten layings of silkworm eggs were collected from each State Sericulture Granary (Krishnagiri and Dindugul) and the Central Silk Board Granary. Half of the eggs (approximately 150 eggs) from each laying were homogenized individually in phosphate buffer and protein concentration was estimated by the method of Lowry *et al.* (1951).

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE):

Egg proteins were separated by 12.5% SDS-PAGE using the SDS discontinuous system of Laemmli (1970). Proteins were visualized by staining with Coomassie brilliant blue.

Western blot analysis:

Egg proteins after electrophoresis were transferred to nitrocellulose filters by diffusion transfer. Non-specific binding was blocked by incubating in TBS (20 mM Tris/HCl 500, mM NaCl buffer, pH 7.5) containing 3% skimmed milk. The membrane was incubated with primary antibody (1:200 dilution), after washing in TBS, again incubated with sheep second antibody conjugated with alkaline phosphatase. The nitrocellulose membrane was then washed and developed as previously described (Blake *et al.*, 1984). Heat-killed microsporidian spores were used as positive controls.

Rearing of silkworms:

The remaining silkworm eggs of the 10 layings were reared hygienically till the cocoon stage, as described by Krishnaswami *et al.* (1973). From this batch 25 silkworms were force-fed with 10^6 spores in 2 µl on the first day of the fifth instar. Samples were collected on different days of larval, pupal, moth and egg stages. They were homogenized, separated in a 12.5% SDS-PAGE and Western-blotted using spore antiserum.

RESULTS

Nosema spores were solubilized in bicarbonate buffer and immunoprecipitated following the method with polyclonal antibodies raised against the heat-denatured spore proteins. The immunoprecipitated *Nosema* spore proteins when run on a 12.5% SDS-PAGE after dissolving in sample buffer (Fig. 1a) showed that five major polypeptides, 68 kD, 45 kD, 29 kD, 25 kD and 17 kD were in coincidence with the antigen (Fig. 1b).

In order to examine the feasibility of using the polysera for detecting the *Nosema* infection, a Western blot analysis of *Nosema* spore-fed silkworms was carried out. *Nosema* spores and *Nosema*-fed larvae (Fig. 2b) were used as positive control and uninfected egg, larvae were used as negative control (Fig. 2a). A 17 kD protein specific for infection was observed. Other than this, a few high molecular weight proteins of size 31 kD, 45 kD and 68 kD also showed reaction with *Nosema* antiserum. The control larvae also showed cross reaction with high molecular size proteins.

Fig. 1a: The peptide profiles of immunoprecipitated *Nosema* spore protein using polyclonal antiserum in a 12.5% SDS PAGE.

Lane 1: low molecular weight standard protein.

Lane 2: cytoplasmic fraction of *Nosema* spore.

Lane 3: membrane fraction of *Nosema* spore.

Lane 4: immunoprecipitated sample.

Fig. 1a : Profils des peptides des protéines des spores de Nosema immunoprécipitées par antiserum polyclonal sur SDS PAGE à 12,5 %.

Puits 1 : protéines standard de faible poids moléculaire.

Puits 2 : fraction cytoplasmique des spores de Nosema.

Puits 3 : fraction de la membrane des spores de Nosema.

Puits 4 : échantillon immunoprécipité.

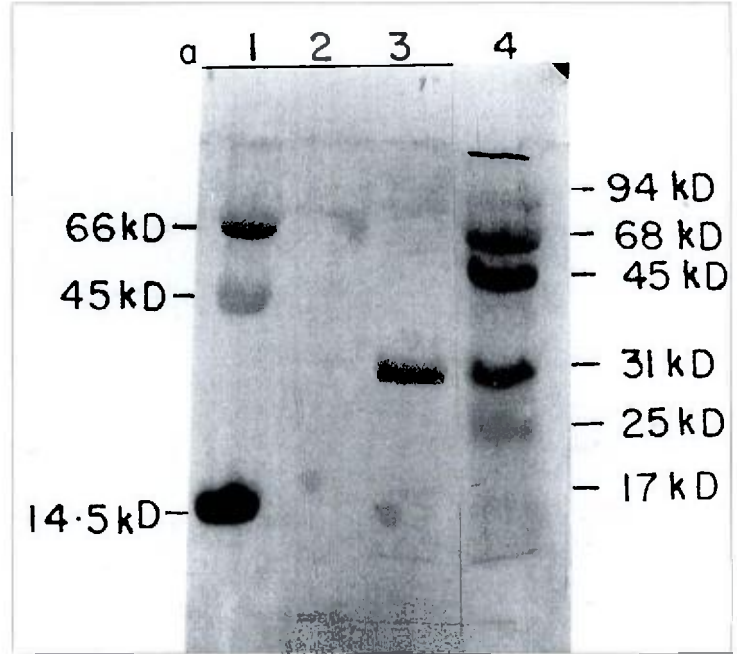


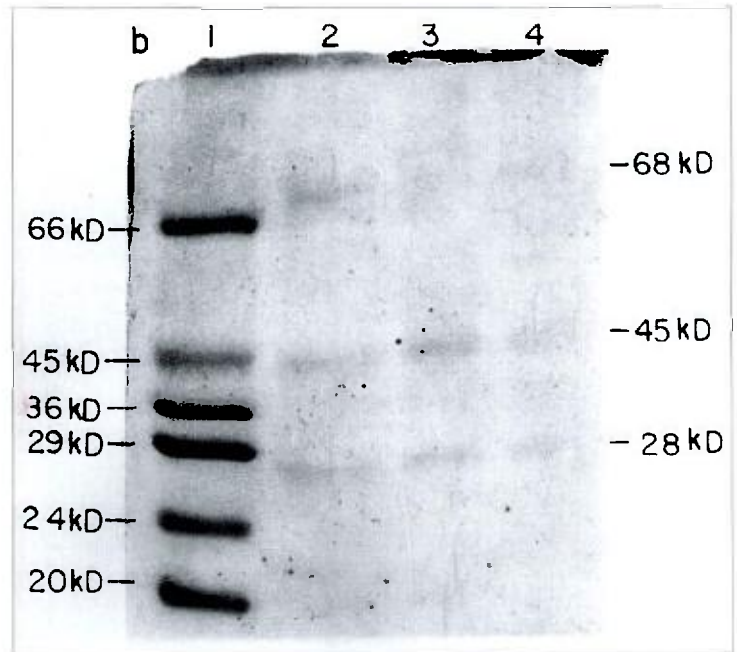
Fig. 1b: A 12.5% SDS PAGE pattern of bicarbonate-solubilized *Nosema* spore proteins.

Lane 1: standard. Lanes 2-4: 100 µg, 75 µg and 50 µg proteins.

Fig. 1b : Profil sur SDS PAGE à 12,5 % des protéines des spores de Nosema solubilisées dans du bicarbonate.

Puits 1 : protéines standard.

Puits 2 à 4 : protéines de 100 µg, 75 µg et 50 µg.



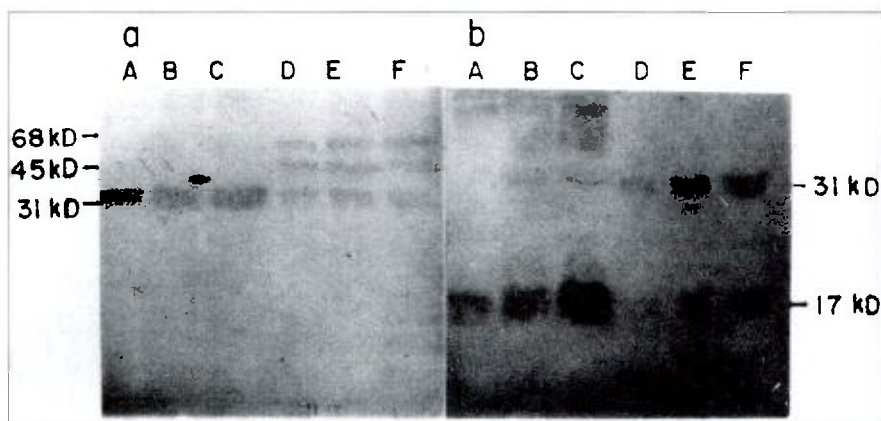


Fig. 2: Western blot analysis of *Nosema* spore fed and control silkworms (*Bombyx mori*), using different concentrations (140 μ g, 100 μ g and 75 μ g) of proteins.

a. Lanes A, B and C: control larval homogenate. Lanes D, E and F: control egg.

b. Lanes A, B and C: *Nosema* spore homogenate. Lanes D, E and F: *Nosema*-fed silkworm larval homogenate.

Fig. 2 : Analyse en « western blot » des vers à soie *Bombyx mori* nourris avec des spores de *Nosema* et des témoins, avec différentes concentrations de protéines (140 μ g, 100 μ g et 75 μ g).

a. Puits A, B et C: broyat larvaire témoin. Puits D, E et F: œuf témoin.

b. Puits A, B et C: broyat de spores de *Nosema*. Puits D, E et F: broyat de larves nourries avec *Nosema*.

Egg samples collected from two State Sericulture and one Central Silk Board Granaries were homogenized in phosphate buffer, fractionated in 12.5% SDS-PAGE and analyzed using Western blot (Fig. 3a, b and c). In all the three cases, the high molecular weight proteins showed positive reaction. These are seen in uninfected control also. However, the eggs from one of the State Sericulture Granaries (Dindugul) showed the presence of a 17 kD molecular weight protein (Fig. 3a).

Rearing experiments showed 80% mortality of the silkworms from the Dindugul Granary that showed the 17 kD protein. Further, the remaining 20% did not spin cocoons but spitting of silk was observed. In the samples from the other granaries, which showed only high molecular weight polypeptides, less than 10% mortality was observed. Microscopic examination of these samples confirmed the presence of *Nosema* spores in those silkworms that showed mortality.

Fig. 4a shows the result of a Western blot analysis with various samples collected after force-feeding silkworms with the spores on the first day of the fifth instar and analyzed on different days of development with different tissues. Distinct reactions of 17 kD, 25 kD, 31 kD and 66 kD proteins with *Nosema* spore antisera were observed. Samples collected from the farmers where complete mortality was observed also showed the presence of the 17 kD polypeptide (Fig. 4b). The 17 kD protein can be identified in the Western blot even though there was no visible band in the Coomassie brilliant blue stained SDS-PAGE. This shows that using this method a very low concentration (less than a μ g) can be identified, revealing the efficiency of the kit.

DISCUSSION

In the present study, it was aimed to identify a *Nosema* infection-specific polypeptide which could be of epidemiological significance and could prove useful as a virulence marker. The 17 kD polypeptide which lighted up on Western blotting against the polyclonal serum raised against the spore proteins seems to be infection-specific (Fig. 2). Further, the egg samples with

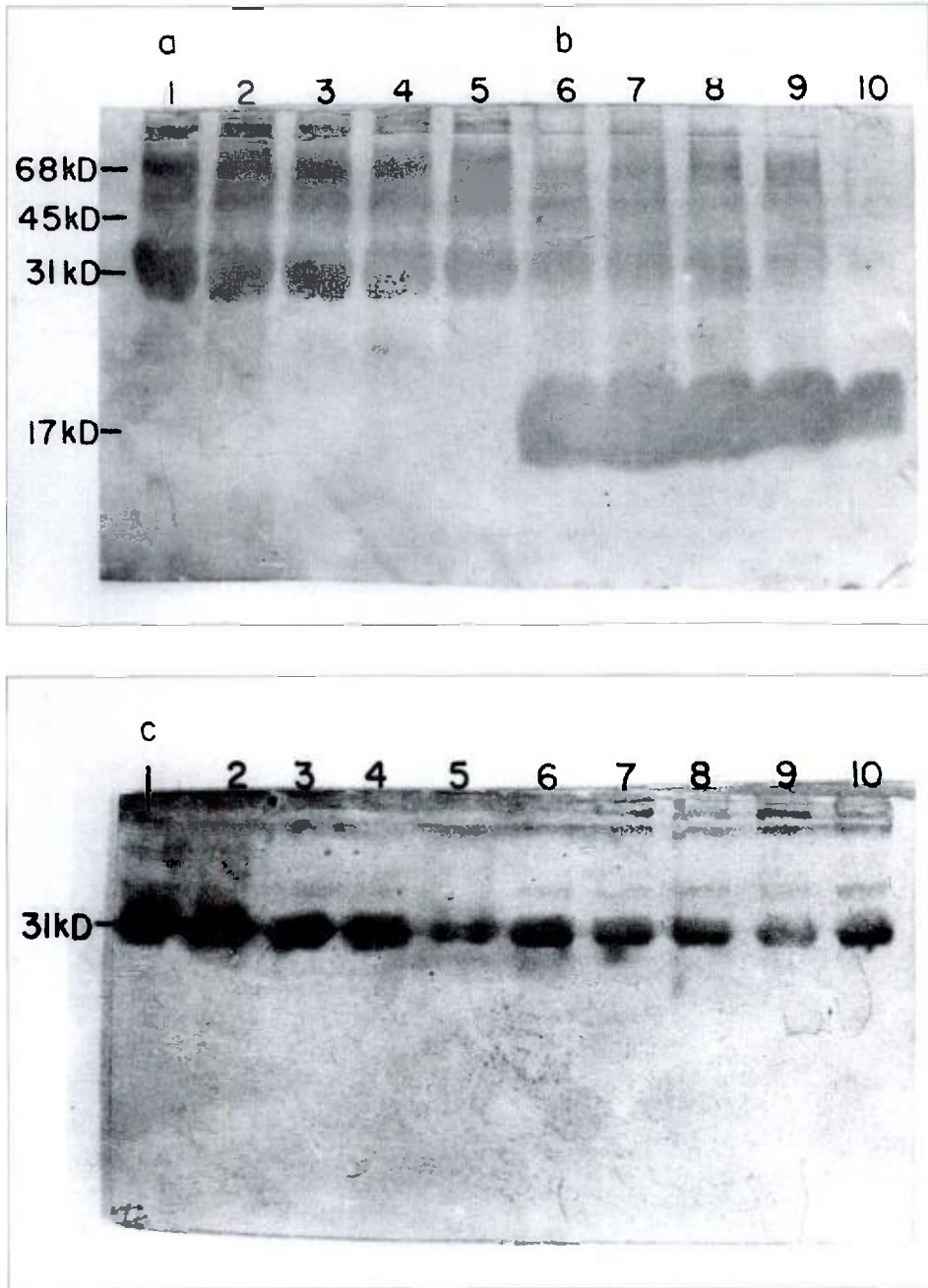


Fig. 3: Western blot analysis of 12.5% SDS PAGE separated silkworm egg proteins.

a. Lanes 1-5 : from the State Sericulture Granary of Dindugul. **b.** Lanes 6-10: from the State Sericulture Granary of Krishnagiri. **c.** Lanes 1-10 : from the Central Silk Board Granary (Samayanallur, Tamil Nadu).

Fig. 3 : Analyse des protéines d'œufs de vers à soie séparés par « western blot » sur SDS PAGE à 12,5 %.

a. Puits 1-5 : œufs provenant du State Sericulture Grainage de Dindugul. *b.* Puits 6-10 : œufs provenant du State Sericulture Grainage de Krishnagiri. *c.* Puits 1-10 : œufs provenant du Central Silk Board Grainage (Samayanallur, Tamil Nadu).

Fig. 4a: Comparative detection of *Nosema* infection in different samples by Western blot analysis.

Silkworms were fed with *Nosema* spores as described in the Methods. Various samples were collected at different stages of development and Western blotted. **Lane 1:** control pupa. **Lane 2:** infected digestive juice on the fifth day of the fifth instar. **Lane 3:** infected egg. **Lane 4:** infected pupa. **Lane 5:** infected digestive juice after 12 hr of infection. **Lane 6:** *Nosema* spore.

Fig. 4a : Détection comparative de l'infection par *Nosema* chez différents échantillons analysés par « western blot ».

Les vers à soie ont été nourris avec des spores de *Nosema* suivant le protocole décrit dans les Méthodes. Les échantillons ont été prélevés à différents stades du développement et soumis à un blavardage en Western. **Puits 1 :** chrysalide témoin. **Puits 2 :** suc digestif infesté au 5^e jour du 5^e âge. **Puits 3 :** œuf infesté. **Puits 4 :** chrysalide infestée. **Puits 5 :** suc digestif infesté 12 h après l'infestation. **Puits 6 :** spore de *Nosema*.

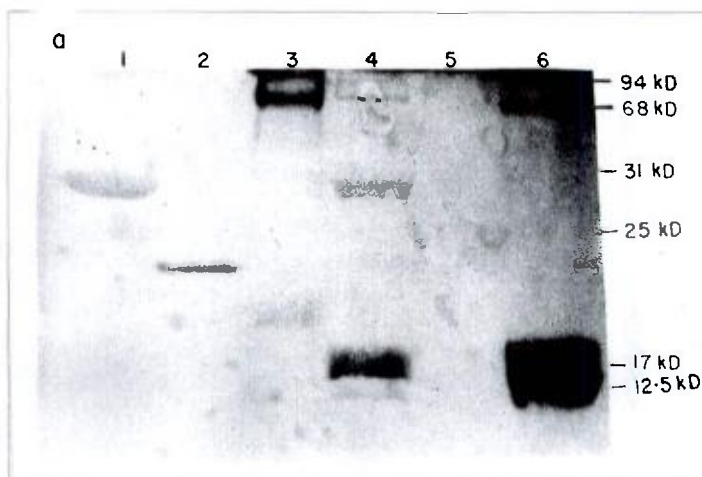
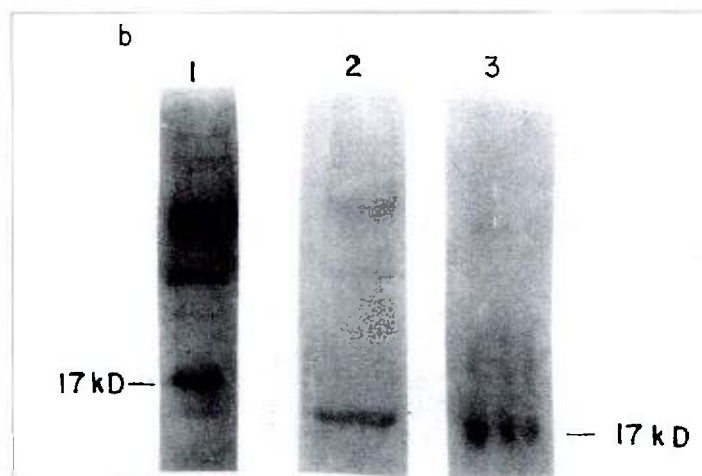


Fig. 4b: Western blot analysis of samples collected from field showing the infection-specific 17 kD protein.

Lane 1: fifth instar silkworm larva. **Lane 2:** pupa. **Lane 3:** fifth instar silkworm fed with *Nosema* spores.

Fig. 4b : Analyse en « western blot » des échantillons prélevés sur le terrain et présentant la protéine de 17 kD spécifique de l'infestation.

Puits 1 : larve de ver à soie au 5^e âge. **Puits 2 :** chrysalide. **Puits 3 :** larve du 5^e âge nourrie avec des spores de *Nosema*.



the 17 kD polypeptide showed complete mortality during its larval life even if they were reared hygienically. Infection of larvae with *Nosema* also led to the production of the 17 kD polypeptide. These results taken together imply that the 17 kD protein could be used as a virulence marker. A similar low molecular weight peptide was observed in the Western blot analysis of *Nosema furnacalis* infected European corn borer homogenate (Oien and Ragsdale, 1992).

The immunological reaction of the high molecular weight polypeptides may be explained due to variation in different *Nosema* isolates (Fujiwara, 1979). According to Baig *et al.* (1992), the spores of different microsporidia (NIK 2r, NIK 3h and NIK LM) isolated from the silkworm were reactive with the antibody-sensitized latex beads but they differed in their severity of causing mortality (as

quoted by Vathsala and Rajsehkumar Sinha, (1994). Ke *et al.* (1990) have shown similar antigenicity in *N. furnacalis* and *N. pyrausta*. The antigens derived from disrupted spore coat protein significantly cross reacted among microsporidia.

The presence of the 17 kD protein at any stage of the life cycle resulted in complete mortality in the laboratory as well as in the field. Microsporidia have been frequently found in eggs of arthropods (Zissler and Sander, 1982) and can be passed on to the next generation via the egg (Becnal *et al.*, 1986; Han and Watanabe, 1988). Immunological reaction shows the presence of microsporidia inside the eggs of silkworms, confirming transovarial transmission which is not only through the surface of silkworm eggs but also via the cytoplasm. This 17 kD protein can be taken as a virulence marker for identifying the microsporidian infection. Any batch of larvae showing the 17 kD protein in Western blot could be discarded. Careful screening before the selection of seed cocoons by this method would improve the quality and quantity of silk.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author thanks the International Foundation for Science, Sweden, for financial support; Prof. K. Dharmalingam for valuable suggestions and for the critical review of the manuscript; Mr M. Swami, Assistant-Director of the State Sericulture Department, Madurai, and Dr Sam Mathai, SRA, CSR & TI, TSC (Central Silk Board), Samayanallur, Madurai, for providing silkworm eggs.

REFERENCES

- BAIG M., DATTA R.K., NATARAJU B., SAMSON M.V., SIVAPRASAD V. (1992) Protein A linked latex antisera test for the detection of *Nosema bombycis* Naegeli spores. J. Invertebr. Pathol., 60, 312-313.
- BECNEL J.J., HAZARD E.I., FUKUDA T. (1986) Fine structure and development of *Pilospora chapmani* (Microspora: The Iohaniidae) in the mosquito, *Aedes triseriatus* (Say). J. Protozool., 33, 60-66.
- BLAKE M.S., JOHNSTON K.H., RUSSELL-JONES G.J., GOSTSCHLICH E.C. (1984) A rapid sensitive method for detection of alkaline phosphatase conjugated antibody on Western blots. Anal. Biochem., 136, 175-179.
- CALI A. (1971) Morphogenesis in the genus *Nosema*. In Proceedings, IV International Colloquium on Insect Pathology, pp. 431-438. University of Maryland Press, College Park.
- FUJIWARA T. (1979) Three microsporidians (*Nosema* sp.) from the silkworm, *B. mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 49(3), 236.
- FUJIWARA T., OGIMOTO K., SUDO K., UEDA K. (1966) Immunofluorescence study of *Nosema bombycis* Naegeli, a causative agent of the pebrine. Acta Sericol., 58, 14-19.
- HAN M.S., WATANABE H. (1988) Transovarial transmission of two microsporidian in the silkworm, *B. mori*, and disease occurrence in the progeny population. J. Invertebr. Pathol., 51, 41-45.
- HAYASAKA S., AYUZAWA C. (1987) Diagnosis of microsporidians, *Nosema bombycis* and closely related species by antibody-sensitized latex. J. Sericult. Sci. Japan, 56(2), 169-170.
- KAWARABATA T., HAYASAKA S. (1987) An enzyme-linked immunosorbent assay to detect alkali soluble spore surface antigens of strains of *Nosema bombycis* (Microspora: Nosematidae). J. Invertebr. Pathol., 50, 118-123.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYAN S.K., KUMARARAJ S. (1973) Sericulture Manual: Silkworm Rearing. Food and Agriculture Organization Publ. Rome, pp. 131.
- KE Z., XIE W., WANG X., LONG Q., PU Z. (1990) A monoclonal antibody to *Nosema bombycis* and its use for identification of microsporidian spores. J. Invertebr. Pathol., 56, 395-400.
- LAEMMLI J.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. Nature, 227, 680-685.
- LOWRY O.H., ROSENBOUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.

- OIEN C.T., RAGSDALE D.W. (1992) A species-specific enzyme-linked immunosorbent assay for *Nosema furnacalis* (Microspora: Nosematidae).
- SATO R., WATANABE H. (1980) Purification of mature microsporidian spores by isodensity equilibrium centrifugation. *J. Sericult. Sci. Japan*, 49, 512-516.
- SATO R., KOBAYASHI M., WATANABE H., FUJIWARA T. (1981) Serological discrimination of several kinds of microsporidian spores isolated from the silkworm, *Bombyx mori*, by an indirect fluorescent antibody technique. *J. Sericult. Sci. Japan*, 50, 180-184.
- ZISSLER D., SANDER K. (1982) The cytoplasmic architecture of the insect egg cell. *In* *Insect Ultrastructure*. CR. C. King and H. Akai, Eds., Vol. 1, pp. 189-221, Plenum Press, New York/London.

DETECTION DE L'INFESTATION PAR *NOSEMA BOMBYCIS* CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* PAR ANALYSE EN IMMUNOEMPREINTE

A. SIRONMANI

School of Biotechnology, Madurai Kamaraj University, Madurai - 625 021, Tamil Nadu, Inde.

*On a mis au point une méthode d'immunoempreinte permettant d'identifier l'infestation par le microsporidien *Nosema* chez *Bombyx mori*. Des anticorps polyclonaux ont été obtenus à partir de lapins contre les protéines des spores de *Nosema*. La réaction immunologique chez les larves et les œufs de vers à soie infestés par *Nosema* révèle la présence d'un polypeptide de 17 kD qui semble être spécifique de cette infestation. Le lot d'œufs faisant apparaître le polypeptide de 17 kD par analyse en immunoempreinte présente une mortalité de 80 % à la fin du cinquième âge et de 20 % après le filage des cocons. Les échantillons prélevés dans le lot d'élevage dont le taux de mortalité est de 100 % présentent également le polypeptide de 17 kD. Ce polypeptide peut être utilisé comme marqueur de virulence pour l'identification de l'infestation par le microsporidien.*

INTRODUCTION

Le microsporidien *Nosema bombycis* est l'agent responsable de la pébrine chez le ver à soie *Bombyx mori*. L'infestation peut être chronique à fortement virulente et entraîner la perte de la totalité de la récolte. L'identification des parasites microsporidiens est basée sur les caractères morphologiques observés à la loupe par des techniciens hautement qualifiés. La découverte récente de séquences du développement morphologiquement distinctes (dimorphisme) chez les microsporidiens soulève des difficultés pour ce qui concerne l'identification (Cali, 1971).

Les résultats obtenus à l'aide de la technique des anticorps fluorescents indirects (Fujiwara et coll., 1966 ; Sato et coll., 1981) et du dosage immunoenzymatique (Kawarabata et Hayasaka, 1987) suggèrent que ces méthodes pourraient être utilisées pour détecter le microsporidien au stade spore. Cependant, ces méthodes sont difficiles à appliquer de manière systématique car les antigènes de type particules de grande taille comme les spores de microsporidiens se fixent mal sur la plaque de dosage. Hayasaka et Ayuzawa (1987) et Baig et coll. (1992) ont mis au point un test d'agglutination sur lame pour les spores de microsporidiens en utilisant des billes de latex sensibilisées aux anticorps. Cependant, cette technique n'est pas totalement satisfaisante car il n'y a pas de différence discrète entre lots infestés et non infestés.

Cette étude a pour objet d'élaborer une méthode spécifique d'identification de l'infestation microsporidienne chez le ver à soie en utilisant des anticorps polyclonaux pour le polypeptide spécifique de l'infestation par *Nosema bombycis*. Cette méthode permettra non seulement d'identifier *Nosema bombycis* au stade spore mais également au stade végétatif de son cycle. Elle aidera les sériciculteurs à détecter la pébrine à un stade précoce d'infestation et permettra d'améliorer la qualité et la quantité de soie produite.

MATERIELS ET METHODES

Les spores de microsporidiens ont été prélevées au *State Granary Centre* (Hosur, Tamil Nadu, Inde) et ont été propagées chez des larves du deuxième âge du ver à soie *Bombyx mori* par nourrissage

avec des feuilles de mûrier contaminées par des spores (10^4 spores/ml). Les spores ont été isolées deux semaines plus tard après broyage des larves dans un tampon phosphate (0,2 M, pH 7,5) et filtrage sur de la gaze. Les spores ont été purifiées selon la méthode de Sato et Watanabe (1980), comptées à l'aide d'un hémocytomètre et stockées à 4 °C dans un tampon phosphate à la concentration de 10^9 spores/ml.

Préparation des anticorps polyclonaux :

L'antisérum a été obtenu à partir de spores de *Nosema* entières tuées à la chaleur chez des lapins blancs adultes. Les spores purifiées (10^9 /ml) ont été chauffées à 65 °C pendant 10 mn et mélangées dans un volume égal d'adjuvant complet de Freund. Des injections sous-cutanées ont été effectuées aux jours 0, 7, 14 et 28, l'animal a été saigné le 35e ou le 40e jour après la saignée expérimentale. La spécificité et le titre ont été vérifiés par double immunodiffusion et immunoprécipitation.

Immunoprécipitation des protéines de spores :

Les spores de *Nosema* ont été solubilisées dans un tampon de bicarbonate (50 mM de bicarbonate de sodium, pH 8,3, 25 mM dithiothreitol) à 37 °C pendant 1 à 3 heures et immunoprécipitées avec l'antisérum polyclonal de spores à 4 °C pendant une nuit. Les protéines immunoprécipitées ont été lavées dans un tampon phosphate froid et éluées sur PAGE-SDS à 12,5 %.

Préparation des échantillons d'œufs :

Dix pontes de vers à soie ont été prélevés dans chacun des centres de grainage d'Etat (Krishnagiri et Dindugul) et dans le centre de grainage du *Central Silk Board*. La moitié des œufs (environ 150 œufs) de chacune des pontes a été broyée dans un tampon phosphate et la concentration en protéines a été déterminée selon la méthode de Lowry et coll. (1951).

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS (PAGE-SDS) :

Les protéines des œufs ont été séparées par PAGE-SDS en utilisant le système discontinu SDS de Laemmli (1970). Les protéines ont été visualisées par coloration avec du bleu de Coomassie.

Analyse par immunoempreinte :

Après l'électrophorèse, les protéines des œufs ont été transférés sur des filtres en nitrocellulose par diffusion. Les liaisons non spécifiques ont été bloquées par incubation dans une solution saline tamponnée par Tris (TBS) (tampon 20 mM Tris/HCl, 500 mM NaCl, pH 7,5) contenant 3 % de lait écrémé. La membrane a été incubée avec un anticorps primaire (dilution de 1:200) après lavage dans le TBS puis incubée à nouveau avec un anticorps secondaire de mouton conjugué avec de la phosphatase alcaline. La membrane de nitrocellulose a ensuite été lavée et développée selon la méthode décrite précédemment (Blake et coll., 1984). Les spores de microsporidiens tuées à la chaleur ont servi de témoins positifs.

Elevage des vers à soie :

Le reste des œufs de vers à soie issus des 10 pontes a été élevé dans des bonnes conditions d'hygiène jusqu'au filage, selon la méthode décrite par Krishnaswami et coll. (1973). Vingt-cinq larves de ce lot ont reçu une dose administrée oralement de 10^6 spores dans 2 µl le premier jour du cinquième âge. Les échantillons ont été prélevés à différents jours des stades larvaire, nymphal, papillon et œuf. Ils ont été broyés, séparés par PAGE-SDS à 12,5 % et soumis à analyse par immunoempreinte avec l'antisérum de spores.

RESULTATS

Les spores de *Nosema* ont été solubilisées dans un tampon bicarbonate et immunoprécipitées suivant la méthode utilisant des anticorps polyclonaux contre les protéines de spores dénaturées à la chaleur. Les protéines de spores de *Nosema* immunoprécipitées éluées sur PAGE-SDS à 12,5 % après dissolution dans le tampon échantillon (Fig. 1a) présentent cinq polypeptides majeurs de 68 kD, 45 kD, 29 kD, 25 kD et 17 kD coïncidant avec l'antigène (Fig. 1b).

Afin de déterminer s'il est possible d'utiliser les polysérums pour détecter l'infestation par *Nosema*, on a réalisé l'analyse par immunoempreinte des vers à soie nourris avec des spores de *Nosema*. Les spores de *Nosema* et les larves nourries avec *Nosema* (Fig. 2b) ont été utilisés comme témoins positifs ; les œufs et les larves non infestés ont servi de témoins négatifs (Fig. 2a). On a observé une protéine de 17 kD spécifique de l'infestation. Outre cette protéine, quelques protéines d'un poids moléculaire élevé et mesurant 31 kD, 45 kD et 68 kD présentent également une réaction à l'antisérum de *Nosema*. Les larves témoins donnent également une réaction croisée avec les protéines de grande taille.

Les échantillons d'œufs provenant des deux centres de grainage d'Etat et du centre de grainage du *Central Silk Board* ont été broyés dans un tampon phosphate, fractionnés par PAGE-SDS à 12,5 % et soumis à analyse en immunoempreinte (Fig. 3a, b et c). Dans les trois cas, les protéines de poids moléculaire élevé présentent une réaction positive et sont également présentes dans le témoin non infesté. Cependant, une protéine d'un poids moléculaire de 17 kD est présente chez les œufs de l'un des centres de grainage d'Etat (Dindugul) (Fig. 3a).

Les expériences d'élevage révèlent une mortalité de 80 % chez les vers à soie issus du centre de grainage de Dindugul et possédant la protéine de 17 kD. De plus, les 20 % restant n'ont pas filé leurs cocons mais on a pu observer une excrétion de soie. Chez les échantillons des autres centres de grainage, qui présentent seulement des polypeptides de poids moléculaire élevé, on observe une mortalité de moins de 10 %. L'examen au microscope de ces échantillons confirme la présence des spores de *Nosema* chez les vers à soie présentant une mortalité.

La figure 4a donne le résultat d'une analyse en immunoempreinte de divers échantillons prélevés après administration orale de spores chez les larves au premier jour du cinquième âge et dont les tissus ont été analysés à différents jours du développement. Les protéines de 17 kD, 25 kD, 31 kD et 66 kD présentent des réactions distinctes aux antisérums des spores de *Nosema*. Les échantillons prélevés chez les fermiers et dont la mortalité est de 100 % présentent également le polypeptide de 17 kD (Fig. 4b). La protéine de 17 kD peut être identifiée par immunoempreinte même lorsqu'il n'y a aucune bande visible dans la PAGE-SDS colorée au bleu brillant de Coomassie. Ceci démontre l'efficacité de cette méthode qui permet d'identifier une concentration même très faible (moins de 1 µg).

DISCUSSION

L'objet de cette étude est l'identification d'un polypeptide spécifique de l'infestation par *Nosema* qui pourrait avoir une signification épidémiologique et s'avérer utile comme marqueur de virulence. Le polypeptide de 17 kD révélé par immunoempreinte contre l'antisérum polyclonal des protéines de spores semble être spécifique de l'infestation (Fig. 2). De plus, les échantillons d'œufs possédant le polypeptide de 17 kD présentent une mortalité de 100 % au cours du stade larvaire même s'ils sont élevés dans de bonnes conditions d'hygiène. L'infestation des larves par *Nosema* entraîne également la production du polypeptide de 17 kD. Considérés conjointement, ces résultats impliquent que la protéine de 17 kD peut être utilisée comme marqueur de virulence. Un peptide d'un poids moléculaire également faible a été observé après analyse par immunoempreinte d'un broyat de teigne des blés infesté par *Nosema furnacalis* (Oien et Ragsdale, 1992).

La réaction immunologique des polypeptides de poids moléculaire élevé peut s'expliquer par des variations entre les différents isolats de *Nosema* (Fujiwara, 1979). D'après Baig et coll. (1992), les spores de différents microsporidiens (NIK 2r, NIK 3h et NIK LM) isolées chez le ver à soie réagissent aux billes de latex sensibilisées aux anticorps mais donnent des taux de mortalité variables (cité par Vathsala et Rajsekhumar Sinha, 1994). Ke et coll. (1990) ont démontré une antigénicité similaire chez *N. furnacalis* et *N. pyrausta*. Les antigènes dérivés de protéines de membranes de spores sectionnées donnent une réaction croisée significative chez les microsporidiens.

La présence de la protéine de 17 kD à tous les stades du cycle vital se traduit par une mortalité de 100 % tant en laboratoire que sur le terrain. Les microsporidiens sont souvent présents dans les œufs des arthropodes (Zissler et Sander, 1982) et peuvent être transmis à la génération suivante par l'intermédiaire de l'œuf (Becnél et coll., 1986; Han et Watanabe, 1988). La réaction immunologique démontre la présence des microsporidiens à l'intérieur des œufs des papillons, ce qui confirme la transmission transovarienne non seulement à la surface des œufs mais également par l'intermédiaire

du cytoplasme. Cette protéine de 17 kD peut servir de marqueur de virulence afin d'identifier l'infestation par le microsporidien. Tout lot de larves présentant la protéine de 17 kD par immunoempreinte peut être écarté. Le tri détaillé des lots par cette méthode avant la sélection des cocons destinés au grainage permettra d'améliorer la qualité et la quantité de soie.

EFFECT OF RADIATION ON THE ACTIVITY OF DIGESTIVE ENZYMES IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

B. LAKSHMI KUMARI¹, S.R. ANANTHANARAYANA¹ & JAYAPRAKASH^{2*}

1. Department of Studies in Sericulture, Jnanabharathi Campus, Bangalore - 560 056, India.

2. Centre for Applied Genetics, Department of Zoology, Jnanabharathi Campus, Bangalore University, Bangalore - 560 056, India.

Mulberry silkworms (Pure Mysore race) were treated with ⁶⁰Co gamma-rays. The larvae at early fifth instar were subjected to three different doses of radiation, i.e., 500, 1000 and 1500 r. The larvae were allowed to spin their cocoons. In the following generation, the larvae at fifth instar were used to study the activity of digestive enzymes, i.e., amylase and protease, in response to irradiation using haemolymph and midgut tissues. The enzyme activity was found to be higher in treated groups, especially in 1500 r, than in the control. The results also indicate maximum enzyme activity during the middle part of the fifth instar with a few variations among the treated groups.

Keywords: *Bombyx mori*, gamma-radiation, haemolymph, midgut, amylase, protease.

INTRODUCTION

In view of its economic importance, the life history of *Bombyx mori* has been investigated extensively through studies on genetics, breeding, physiology and biochemistry. Investigations on different enzymes in the silkworm followed after the pioneering work of Matsumura (1934). Attempts have been made to describe the genetic control of amylase activity in the intestinal juice (Matsumura, 1951) and in the haemolymph (Kuroda, 1951; Kikkawa, 1953). The quantitative, qualitative and functional differences between the two amylase types have been shown by Seki (1951) and Matsumura (1951). Fundamental localisation and the activities of digestive enzymes (i.e., protease and amylase) in different tissues have been worked out in detail by various authors (Ito *et al.*, 1962; Horie *et al.*, 1963; Mukaiyama *et al.*, 1964; Hirata and Gamo, 1969; Kanekatsu, 1973, 1980; Eguchi and Iwamoto, 1976, 1982; Sarangi, 1986; Kusano and Tanabe, 1986; Jadhav and Kallapur, 1988; Chatterjee *et al.*, 1989; Abraham *et al.*, 1992).

Goldschmidt (1916), Matsumura (1934) and Kikkawa (1950) have pointed out a possible regulation with two different genes (*Ae* and *Be*) for the control of amylase functions in digestive and body fluids of different races of silkworm. Astaurov (1935) has opined that studies on artificial mutations in the silkworm through X- and gamma-rays are of considerable interest for geneticists. An attempt has been made in the present investigation to study the effects of radiation on the activity of digestive enzymes (amylase and protease) in two tissues (haemolymph and midgut) of the silkworm, *Bombyx mori*.

MATERIALS AND METHODS

Laboratory-bred multivoltine (Pure Mysore race) fifth instar silkworms were used as experimental insects. The rearing technique of larvae was similar to that described by Krishnaswami *et al.* (1978). The fifth instar larvae at 1st day of development (50 nos. per batch) were irradiated with gamma rays from a ⁶⁰Co source (Theratron 780-C-AECL, Canada) at the rate of 150 r/min. The

* To whom correspondence should be addressed.

irradiation doses were 500, 1000 and 1500 r at room temperature ($24 \pm 2^\circ\text{C}$). The irradiated larvae were allowed to spin their cocoons. It was observed that all the larvae spun their cocoons. Sixteen to 20 layings were obtained in each treated set, out of these, 5 layings were brushed off. In the next generation, the fifth instar larvae were used at different days of development for the assay of digestive enzymes (i.e., amylase and protease).

The haemolymph and midgut tissue of fifth instar larvae were used for enzyme extraction. The haemolymph was collected (by puncturing the caudal horn) in 5 ml vials containing a few crystals of phenylthiourea to prevent oxidation of haemolymph, and were stored in an ice bath. For extirpating the midgut tissue, the larvae were dissected in ice-cold *Bombyx* saline (Yamaoka *et al.*, 1971). The complete alimentary canal was removed from the larva and was flushed with ice-cold saline three times to remove leaf debris. The midgut was separated from the rest of the alimentary canal and stored in the ice bath. A 10% (w/v) homogenate of the tissue was prepared in demineralised ice-cold water in a glass homogeniser with a Teflon-coated pestle placed in crushed ice. Both haemolymph and midgut tissue (10% homogenate) samples were diluted with demineralised water 40 and 10 times, respectively. The above samples were centrifuged in a refrigerated centrifuge at 8000 rpm for 15 minutes at 4°C . The supernatant was collected and used as the enzyme source. The tissues from five larvae were pooled for each experiment.

Quantitative analysis of amylase activity was done in haemolymph and midgut tissue following the method of Noelling and Bernfeld (1948) using the 3,5 dinitrosalicylic acid reagent, as modified by Ishaaya and Swirski (1970). A typical assay mixture contained 1 ml of appropriately diluted enzyme, 1 ml of substrate solution (freshly prepared 1% starch solution), and 2 ml of 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 6.5). Incubation of this mixture was carried out for 20 minutes at room temperature. After 20 minutes, 1 ml of 3,5-dinitrosalicylic acid reagent was added and the volume was then made up to 10 ml with distilled water. The mixture was boiled in a water bath for 10 minutes and allowed to cool. The intensity of the colour was determined at 540 nm in a UV-Vis spectrophotometer. The enzyme activity was expressed as μg glucose/min./ml and μg glucose/min./g for haemolymph and midgut tissue samples, respectively.

Protease activity was assayed in haemolymph and midgut tissues according to the method of Eguchi and Iwamoto (1976) with a slight modification as outlined by Sarangi (1986). The 0.5 ml of the appropriately diluted enzyme solution was mixed with 0.5 ml of substrate (1% casein) and 2 ml of 0.1 M borate buffer (pH 11.0), then incubated for 30 minutes at 30°C . After digestion, intact casein was precipitated with 2 ml of 10% trichloroacetic acid and removed by filtration. The concentration of digested protein in the filtrate was determined with 0.55 M sodium carbonate and Folin's reagent in a UV-Vis spectrophotometer at 660 nm. The enzyme activity was expressed as μmoles of tyrosine/min./ml and μmoles of tyrosine/min./g for haemolymph and midgut tissue samples, respectively.

The quantitative estimation of protein was done in haemolymph and midgut tissues by the method of Lowry *et al.* (1951) by using serum albumin as standard. The values were expressed as μg of protein/ml and μg of protein/g for haemolymph and midgut tissue samples, respectively.

Five pooled replications were assayed and their mean standard deviations were determined. The data were statistically analysed by designing the factorial experiment to determine the statistical significance (Yates, 1937). For the treatments found significant, Dunnett's multiple comparison test (Li, 1964) was made to know which treatment was significantly different from that of the control.

RESULTS

Amylase activity:

The amylase activity in the haemolymph was high on the 4th day in both control and treated sets. The enzyme activity was found to increase with the increase in radiation dose (Fig. 1).

The amylase activity of the midgut tissue was also maximum on the 4th day in both control and treated sets except in the larvae treated with 1500 r. In this set of larvae, the maximum activity of amylase was seen on the 5th day (Fig. 2).

Figure - 1

Fig. 1: Amylase activity of haemolymph among irradiated and control larvae.

Fig. 1 : Activité amylase de l'hémolymph chez les larves irradiées et témoins.

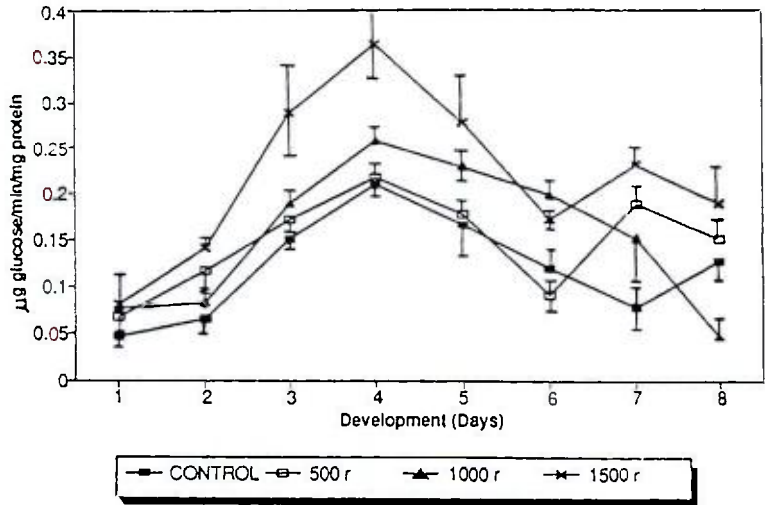
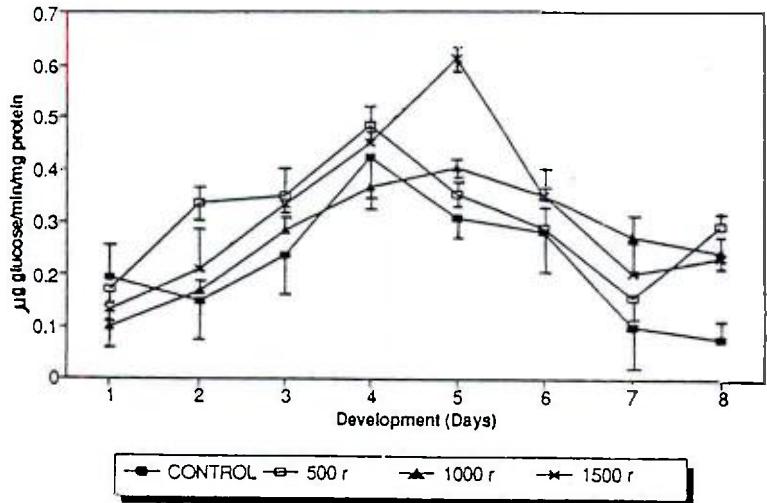


Figure-2

Fig. 2: Amylase activity of midgut among irradiated and control larvae.

Fig. 2 : Activité amylase de l'intestin moyen chez les larves irradiées et témoins.



A difference in amylase activity was observed in the haemolymph and midgut of treated larvae. In the haemolymph, the enzyme activity increased on the 7th day and decreased on the 8th day. On the other hand, in the midgut the activity decreased on the 7th day and increased on the 8th day.

Protease activity:

The peak activity of protease in the haemolymph was found on the 4th day of the fifth instar in the control as well as in treated larvae. The level of activity was reduced on the 5th and 6th days and increased again on the 8th day (Fig. 3).

The protease activity was maximum in the midgut tissue on the 4th day in both treated and control larvae. Among the treated ones, the enzyme activity increased with the increase in the rate of radiation up to the 6th day. In larvae treated with 500 and 1000 r, the activity increased on the 7th day and decreased on the 8th day, whereas in the control and treated larvae (1500 r) the activity decreased on the 7th and increased on the 8th day (Fig. 4).

Figure-3

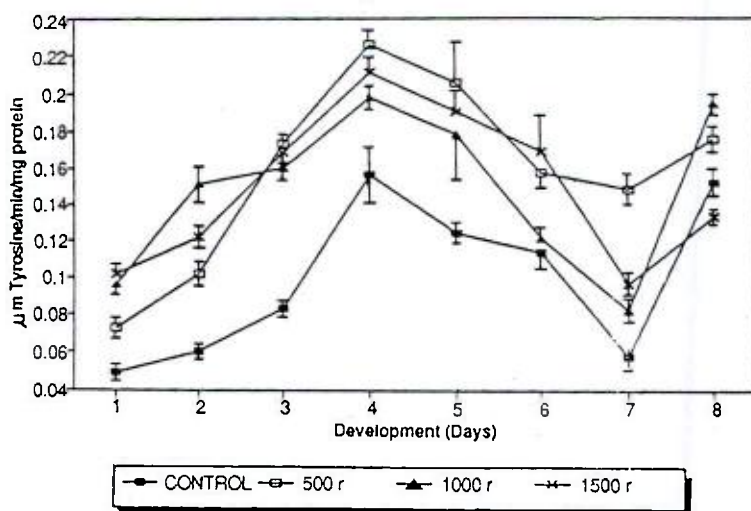


Fig. 3: Protease activity of haemolymph among irradiated and control larvae.

Fig. 3 : Activité protéase de l'hémolymph chez les larves irradiées et témoins.

Figure-4

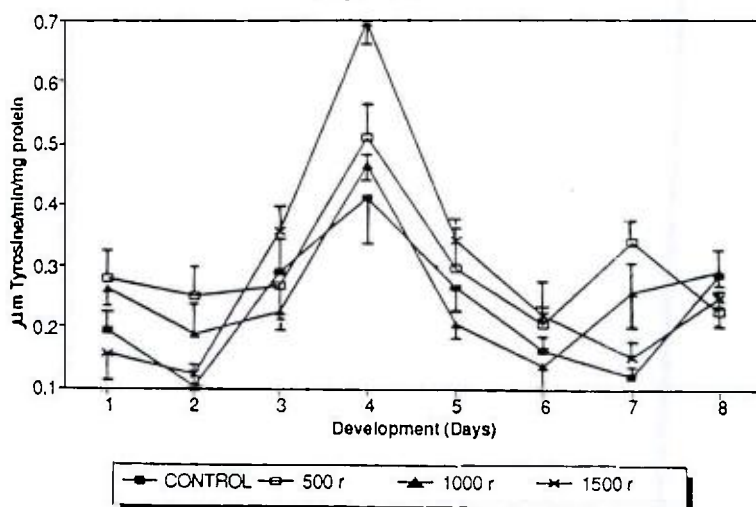


Fig. 4: Protease activity of midgut among irradiated and control larvae.

Fig. 4 : Activité protéase de l'intestin moyen chez les larves irradiées et témoins.

Statistical analyses of the results were made at the 5 per cent level of significance. Accordingly, the a) treatment, b) development (day), c) enzyme source, d) interaction between the day of development and enzyme source and e) interaction between day of development and enzyme were found statistically significant (Table I).

Since there was a significant difference among the treatments, the Dunnet's multiple comparison test (Li, 1964) was made (Table II). The conclusion drawn was that:

- The treatments with 500 and 1000 r were not significantly different from the control.
- The treatment with 1500 r was significantly different from the control.

DISCUSSION

The leaf consumption of fifth instar *B. mori* amounts to more than 75 per cent of the total instars. The high intake of food by the fifth instar is to accumulate sufficient energy resources to support its metabolism during non-feeding pupal-adult development. Digestive enzymes may play a major role

in the body of insects by converting complex food materials into micromolecules necessary to provide energy and metabolites for growth, development and other vital functions (Waterhouse, 1957; House, 1965a, 1965b; Wigglesworth, 1972a, 1972b).

Table I. Analysis of variance.

Tableau I. Analyse de variance.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean sum of squares	F ratio	Remarks
Source de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Somme des carrés moyens	Rapport de F	Remarques
Development (day) <i>Développement (jour)</i>	7	0.5798123	0.0854017	25.902065	S
Treatment / <i>Traitement</i>	3	0.0999487	0.0333162	10.104698	S
Enzyme source / <i>Source d'enzyme</i>	1	0.4770325	0.4770325	144.68245	S
Enzyme	1	0.0089965	0.0089965	2.72861	NS
Day × enzyme source <i>Jour × source d'enzyme</i>	7	0.08665768	0.0123681	3.7512056	S
Day × enzyme / <i>Jour × enzyme</i>	7	0.666335	0.009519	2.8870826	S
Error / <i>Ecart</i>	101	0.0032971	0.0032971		
Total	127	1.6700055			

Table values of F distribution at the 5% level of significance / *Valeurs de la répartition de F significatives au seuil de 5 %*.
 $F_{1,101} = 3.92$; $F_{3,101} = 2.68$; $F_{7,101} = 2.09$

S: Significant / *Significatif*. NS: Not significant / *Non significatif*.

Ishaaya *et al.* (1971), while working on protease and amylase activities in the larvae of the Egyptian cotton worm, *Spodoptera littoralis*, have shown that certain protein factors present in the food can stimulate digestive enzymes, probably through a hormonal mechanism. Sreekumar and Prabhu (1988) clearly demonstrated the possible role of midgut tissue in stimulation of digestive enzyme secretion in *Oryctes rhinoceros*. A significantly high activity of the midgut enzymes during the fifth instar showed a higher rate of enzyme synthesis corresponding to an enhanced food intake (Waldbauer, 1968). Seth and Sehgal (1985) determined that sublethal doses of gamma irradiation (2 to 7 k rad) induced changes in the nutritional profile of the larvae of *Spodoptera litura*. It is believed that in the present observation, the feeding stimulates the production of digestive enzymes in the midgut tissue of fifth instar *B. mori*.

Being proteins, the enzymes are known to be susceptible to radiation damage. The activity of the enzyme may increase or decrease, depending upon the type of enzyme, radiation exposure and length of time elapsed between treatment and assay. In the present investigation, the activities of important digestive enzymes, i.e., amylase and protease, were considerably affected under the influence of gamma-radiation. Chararas *et al.* (1974) observed that irradiation of 2 or 10 k rad caused a slight reduction in amylase and invertase activity in the larvae of *Phoracantha semipunctata*. Prasad and Sethi (1981) found in the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis*, that the activity of both amylase and protease was reduced at 15 and 20 k rad doses of gamma radiation. Since the present results are in

contrast to the report of these authors, it is assumed that the long time gap (about 1 generation) between treatment and assay reduced the metabolic disturbances caused by irradiation, hence, the larvae showed better enzyme activity compared to the control. High activity of the amylase and protease in haemolymph and midgut tissues might be due to a greater utilisation of exogenous proteins resulting in the production of more silk.

Table II. Dunnet's multiple comparison test.

Tableau II. Test de comparaison multiple de Dunnet.

Treatment	Average $\bar{y}_i$	Difference d_i	Dunnet's statistics $\sqrt{r} \, d_i/sd$	Conclusion
Traitement	Moyenne $\bar{y}_i$	Différence d_i	Statistique de Dunnet $\sqrt{r} \, d_i/sd$	Conclusion
Control / <i>Témoin</i>	0.1664281	-	-	-
500 r	0.2255906	0.0591625	2.060824	NS
100 r	0.2060531	0.039625	1.3801739	NS
1500 r	0.2410875	0.0746594	2.6004531	S

dt = 2.39 (Dunnet's table value at the 5% level of significance / Valeur du tableau de Dunnet significative au seuil de 5 %).

$d_i = y_i - y_0$; $i = 1, 2, 3$.

$\sqrt{r}$: number of replications in each cell / nombre de répétitions dans chaque cellule.

sd: standard deviation / écart type.

NS: Not significant / Non significatif. S: Significant / Significatif.

It is presumed that the rate of synthesis of amylase and protease in both the tissues studied is dependent upon the rate of feeding and the irradiation enhanced the enzyme activities still further. But little is known about the relationship between midgut and haemolymph enzymes. Since the haemolymph is the carrier of assimilated food, the peak activity of enzymes in the haemolymph more or less correlates with those of the midgut on the same day of development.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Central Silk Board, Government of India, for extending financial assistance through a research project and the Director, Kidwai Memorial Institute of Oncology, Bangalore, India, for providing radiation facilities.

REFERENCES

- ABRAHAM E.G., NAGARAJU J., DATTA R.K. (1992) Biochemical studies of amylase in the silkworm, *Bombyx mori* L.: Comparative analysis in diapausing and non-diapausing strains. *Insect Biochem.*, 22(8), 867-873.
- ASTAUROV B.L. (1935) Artificial mutations in the silkworm (*Bombyx mori* L.): Experimental production of sex-linked lethal by gamma radiation of radium. *Genetica*, 17, 409-460.

- CHARARAS C., COURTOIS J.E., VIARD B. (1974) A study of the variations in oxidase activity in larvae of *Phoracantha semipunctata* F. (Col., Cerambycidae) exposed to ^{60}Co ionizing radiations. C.R. Seances Soc. Biol., 168(2-3), 227-230.
- CHATTERJEE G.K., RAO G.P., ASWATH S.K., CHATTERJEE S.N. (1989) Studies on the protease activity in the digestive juice of difference breeds/races of mulberry silkworm, *Bombyx mori*. Newsletter, 4(3), 6-7.
- EGUCHI M., IWAMOTO A. (1976) Alkaline proteases in the midgut tissue and digestive fluid of the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem., 6, 691-496.
- EGUCHI M., IWAMOTO A. (1982) Comparison of three alkaline proteases from digestive fluid of the silkworm, *Bombyx mori*. Comp. Biochem. Physiol., 71B(4), 663-668.
- GOLDSCHMIDT R. (1916) Genetic factors and enzyme action. Science, 43, 98-100.
- HIRATA Y., GAMO T. (1969) Different amylase activity in larval digestive juice among silkworm strains. J. Sericult. Sci. Japan, 38, 401-405.
- HORIE Y., TANAKA M., ITO T. (1963) Proteolytic enzymes of digestive juice and midgut of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 32, 8-15.
- HOUSE H.L. (1965a) Digestion. In The Physiology of Insecta (Ed. Rockstein M.), Academic Press, New York, Vol. 2, pp. 815-858.
- HOUSE H.L. (1965b) Effects of low levels of the nutrient content of a food and of nutrient imbalance on the feeding and the nutrition of a phytophagous larva, *Celerio euphorbiae* (Linnaeus) (Lepidoptera, Sphingidae). Can. Ent., 97, 62-68.
- ISHAAYA I., SWIRSKI E. (1970) Invertase and amylase activity in the armoured scales, *Chrysomphalus aonidium* and *Aonidiella aurantiae*. J. Insect Physiol., 16, 1599-1606.
- ISHAAYA I., MOORE I., JOSEPH B. (1971) Protease and amylase activity in larvae of the Egyptian cotton worm, *Spodoptera littoralis*. J. Insect Physiol., 17, 945-953.
- ITO T., MUKAIYAMA F., TANAKA M. (1962) Some properties of amylase of digestive juice and blood of larvae of silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 31, 228-234.
- JADHAV G., KALLAPUR V.L. (1988) Influence of age, sex and feeding on the protease activity of certain tissues of fifth instar silkworm, *Bombyx mori*. Entomon., 13(3-4), 289-293.
- KANEKATSU R. (1973) Purification and some properties of amylase in the digestive juice of the silkworm larvae, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 42, 285-292.
- KANEKATSU R. (1980) Purification of the silkworm digestive amylase and the distribution of the enzyme in larval tissues of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 49(2), 123.
- KIKKAWA H. (1950) The genes controlling amylase functions in the silkworm. Japan J. Genet., 25, 79.
- KIKKAWA H. (1953) Biochemical genetics of *Bombyx mori*. Advances in Genet., 5, 107-140.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARA RAJ S. (1978) Sericulture Manual, 2, FAO Bulletin, 54-88.
- KURODA Y. (1951) Biochemical genetics of amylase functions in body fluids of *Bombyx mori*. Jap. J. Genet., 26, 246-247.
- KUSANO T., TANABE S. (1986) Enzymatic properties of the midgut amylase activity and its changes during development in the cabbage army worm *Mamestra brassicae*. Kontyu, 54(1), 12-24.
- LI C.C. (1964) Introduction to experimental statistics, pp. 419-421, Mc Graw Hill, New York.
- LOWRY O.H., ROSEBOROUGH N.F., FARR A.L., RANDALL R.L. (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- MATSUMURA S. (1934) Genetical and physiological studies on amylase function in digestive and body fluids of *Bombyx mori*. Bull. Nagano. Seric. Exp. Sta., 28, 1-24.
- MATSUMURA S. (1951) On the functional differences of digestive amylase of different strains of the silkworm *Bombyx mori*. L. Bull. Seric. Exp. Sta. Jpn., 13, 513-519.
- MUKAIYAMA F., HORIE Y., ITO T. (1964) Amylase of digestive juice and utilization of dextrin and starch in the silkworm *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 10, 247-254.
- NOELTING G., BERNFELD P. (1948) Sur les enzymes amylolytiques III. La β -amylase. Dosage d'activité et contrôle de l'absence d' α -amylase. Helv. Chim. Acta, 31, 286-290.

- PRASAD H.H., SETHI G.R. (1981) Effect of gama radiation on digestive enzymes of oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel. J. Nucl. Agric. Biol., 10, 10-12.
- SARANGI S.K. (1986) studies on midgut protease activity during fifth instar development of the silkworm *Bombyx mori* L. Entomon, 11 (3), 165-169.
- SEKI T. (1951) Biochemical genetics of amylase functions in digestive fluids of *Bombyx mori*. Jap. J. Genet., 26, 246.
- SETH R.K., SEHGAL S.S. (1985) Gamma irradiation induced changes in the nutritional profile of the larvae of *Spodoptera litura* Fabr. J. Nucl. Agric. Biol., 14(1), 1-3.
- SREEKUMAR S., PRABHU V.K.K. (1988) Probable endocrine role of midgut tissue in stimulation o f digestive enzyme secretion in *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera : Scarabaeidae). Pro. Ind. Acad. Sci., Anim. Sci., 97(1), 73-78.
- WALDBAUER G. (1968) The consumption and utilisation of food by insect. Adv. Insect Physiol., 5, 229-288.
- WATERHOUSE D.F. (1957) Digestion in insects. Ann. Rev. Entomol., 2, 1-18.
- WIGGLESWORTH V.B. (1972a) Digestion and nutrition. In: "The Principles of Insect Physiology", Butler & Tanner Ltd., Frome, 476-552.
- WIGGLESWORTH V.B. (1972b) Metabolism. In : "The Principles of Insect Physiology" Butler & Tanner Ltd., Frome, 593-662.
- YAMAOKA K., HOSHINO M., HIRAO T. (1971) Role of sensory hairs on anal papillae in oviposition behaviour of *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 18, 897-911.
- YATES F. (1937) The design and analysis of factorial experiments. Imp. Bur. Soil. Sci., Harpenden, England.

EFFETS DE LA RADIATION SUR L'ACTIVITE DES ENZYMES DIGESTIVES DU VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

B. LAKSHMI KUMARI¹, S.R. ANANTHANARAYANA¹ & JAYAPRAKASH^{2*}

1. Department of Studies in Sericulture, Jnanabharathi Campus, Bangalore - 560 056, Inde.

2. Centre for Applied Genetics, Department of Zoology, Jnanabharathi Campus, Bangalore - 560 056, Inde.

Nous avons traité des vers à soie mûrier (race Mysore Pure) avec des rayons gamma ⁶⁰Co. Nous avons soumis les larves au début du cinquième âge à trois doses de radiations différentes, en l'occurrence 500, 1000 et 1500 r. Nous avons laissé les larves filer leurs cocons. Nous avons utilisé des larves du cinquième âge de la génération suivante pour étudier l'activité des enzymes digestives, en l'occurrence de l'amylase et de la protéase en utilisant l'hémolymphe et l'intestin moyen, après irradiation. Nous avons constaté que l'activité des enzymes des groupes traités, surtout avec 1500 r, était plus élevée que celle du témoin. Les résultats indiquent aussi une activité maximum de l'enzyme au milieu du cinquième âge larvaire, avec quelques variations parmi les groupes traités.

INTRODUCTION

De nombreuses recherches sur la génétique, l'élevage, la physiologie et la biochimie du *Bombyx mori* ont été entreprises, étant donnée son importance économique. Des recherches sur les différentes enzymes du ver à soie ont suivi le travail de pionnier de Matsumura (1934). Des essais ont été entrepris pour décrire l'emprise génétique sur l'activité de l'amylase dans le liquide intestinal (Matsumura, 1951) et dans l'hémolymphe (Kuroda, 1951 ; Kikkawa, 1953).

Seki (1951) et Matsumura (1951) ont montré les différences fonctionnelles, qualitatives et quantitatives des deux types d'amylase. La localisation et les activités des enzymes digestives (c'est à dire, de la protéase et de l'amylase) dans les différents tissus ont été étudiés en détail par des auteurs variés (Ito et coll., 1962 ; Horie et coll., 1963 ; Mukaiyama et coll., 1964 ; Hirata et Gamo, 1969 ; Kanekatsu, 1973, 1980 ; Eguchi et Iwamoto, 1976, 1982 ; Sarangi, 1986 ; Kusano et Tanabe, 1986 ; Jadhav et Kallapur, 1988 ; Chatterjee et coll., 1989 ; Abraham et coll., 1992).

Goldschmidt (1916), Matsumura (1934) et Kikkawa (1950) ont signalé une régulation possible par deux gènes différents (*Ae* et *Be*) du contrôle des fonctions de l'amylase des sécrétions digestives et autres de différentes races de vers à soie. Astaurov (1935) a avancé que les recherches sur les mutations artificielles chez le ver à soie obtenues grâce aux rayons X et gamma sont d'un intérêt considérable pour les généticiens. Nous essayons par cette recherche d'étudier les effets de la radiation sur l'activité des enzymes digestives (amylase et protéase) dans deux tissus (l'hémolymphe et le mésentéron) du ver à soie *Bombyx mori*.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons utilisé des vers à soie polyvoltins au cinquième âge (race Mysore Pure) élevés en laboratoire. La technique d'élevage des larves est similaire à celle décrite par Krishnaswami et coll., (1978). Nous avons irradié des larves du cinquième âge le premier jour de développement (50 par lot) avec des rayons gamma d'une source ⁶⁰Co (Theratron 780-C-AECL, Canada) à raison de 150r/min. Les doses d'irradiation étaient de 500, 1000 et 1500 r à température ambiante (24 ± 2° C). Nous avons laissé les larves irradiées filer leurs cocons. Nous avons constaté que toutes les larves filaient leurs cocons. Nous avons obtenu seize à vingt pontes pour chaque lot traité, dont cinq ont été retirées. Les

larves du cinquième stade de la génération suivante ont été utilisées à des jours différents de développement pour analyser les enzymes digestives (l'amylase et de la protéase).

Nous avons utilisé l'hémolymph et l'intestin moyen de larves au cinquième âge pour extraire les enzymes. Nous avons recueilli l'hémolymph (en perçant l'éperon caudal) dans des fioles de 5 ml contenant quelques cristaux de phénylthiourée pour empêcher l'oxydation de l'hémolymph et les avons conservées dans de la glace fondante. Nous avons disséqué les larves dans un tampon salin glacé pour extirper l'intestin (Yamaoka et coll., 1971). Le tube digestif complet de la larve a été retiré et nettoyé trois fois avec du tampon glacé pour enlever des débris de feuilles. Nous avons coupé le mésentéron du reste du tube digestif et l'avons conservé dans la glace. Un homogénat de 10 % (p/v) de tissu a été préparé dans de l'eau glacée déminéralisée avec un homogénéisateur en verre dans un mortier recouvert de Teflon placé dans de la glace pilée. Nous avons dilué les échantillons de tissus de l'hémolymph et du mésentéron (homogénat à 10 %) avec de l'eau déminéralisée respectivement 40 et 10 fois. Nous avons centrifugé les échantillons dans une centrifugeuse réfrigérée à 8000 tours/mn. pendant 15 minutes à 4° C. Nous avons recueilli le surnageant et l'avons utilisé comme source de l'enzyme. Nous avons regroupé les tissus de cinq larves pour chaque expérience.

L'analyse quantitative de l'activité de l'amylase a été réalisée à partir de l'hémolymph et du mésentéron en suivant la méthode de Noelting et de Bernfeld (1948) à l'aide du réactif acide 3,5 dinitrosalicylique après la modification d'Ishaaya et Swirski (1970). Le mélange d'essai typique contient 1 ml d'enzyme diluée de manière appropriée, 1 ml de solution de substrat (une solution d'amidon 1 % venant d'être préparée), et 2 ml de tampon de phosphate de sodium à 0,05 M (pH 6,5). L'incubation de ce mélange a été réalisée pendant 20 minutes à température ambiante. Nous avons ajouté 1 ml de réactif acide dinitrosalicylique vingt minutes après et nous avons ajusté le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Nous avons fait bouillir le mélange dans un bain d'eau pendant 10 minutes et l'avons laissé refroidir. Nous avons déterminé l'intensité de la couleur dans un spectrophotomètre UV-Vis à 540nm. L'activité de l'enzyme a été exprimée en μg de glucose/mn./ml et en μg de glucose/mn./g respectivement pour les échantillons d'hémolymph et d'intestin.

Nous avons analysé l'activité de la protéase dans l'hémolymph et dans l'intestin moyen d'après la méthode d'Eguchi et d'Iwamoto (1976), avec une légère modification décrite par Sarangi (1986). Nous avons mélangé 0,5 ml de solution d'enzyme diluée de manière appropriée avec 0,5 ml de substrat (1 % de caséine) et 2 ml de tampon borate à 0,1 M (pH 11,0) et l'avons ensuite incubé pendant 30 minutes à 30 °C. Nous avons précipité la caséine intacte après digestion avec 2 ml d'acide trichloroacétique à 10 % et l'avons retirée en la filtrant. Nous avons déterminé la concentration de protéines digérées dans le filtrat avec du carbonate de sodium 0,55 M et le réactif de Folin dans un spectrophotomètre UV-Vis à 660 nm. L'activité de l'enzyme est exprimée en μmoles de tyrosine/mn./ml et μmoles de tyrosine/mn./g pour les échantillons d'hémolymph et du mésentéron, respectivement.

Nous avons procédé à l'estimation quantitative des protéines dans l'hémolymph et le mésentéron par la méthode de Lowry et coll., (1951) en utilisant de la sérumbalbumine comme étalon. Les valeurs sont exprimées en μg de protéines/ml et μg de protéines/g respectivement, pour l'hémolymph et le mésentéron.

Nous avons analysé cinq réplicats groupés et nous avons déterminé leurs écarts moyens. Nous avons procédé à l'analyse statistique factorielle des données pour pouvoir en déterminer la signification statistique (Yates, 1937). Nous avons effectué le test de comparaison multiple de Dunnett (Li, 1964) pour les traitements jugés significatifs afin de déterminer quel traitement entraînait une différence significative par rapport au témoin.

RESULTATS

Activité amylase :

L'activité amylase dans l'hémolymph est élevée au quatrième jour à la fois pour les lots traités et les lots témoin. Nous constatons que l'activité de l'enzyme augmente en fonction de la dose de radiation (Fig. 1).

L'activité de l'amylase dans l'intestin moyen est aussi maximale au quatrième jour à la fois pour les lots témoin et pour les lots traités, les larves traitées avec 1500 r exceptées. Pour ce lot de larves, l'activité de l'amylase est maximum au cinquième jour (Fig. 2).

Nous observons une différence d'activité de l'amylase dans l'hémolymphe et l'intestin des larves traitées. L'activité de l'enzyme dans l'hémolymphe augmente au septième jour et baisse au huitième jour. En revanche, pour l'intestin elle baisse le septième jour et augmente au huitième jour (Fig. 3).

Activité protéase :

Nous avons constaté que l'activité dans l'hémolymphe est maximale au quatrième jour du cinquième âge pour le témoin comme pour les larves traitées. Le niveau d'activité baisse au cinquième et au sixième jour et réaugmente au huitième jour (fig. 3).

L'activité protéase est maximale dans l'intestin au quatrième jour à la fois pour les larves traitées et les larves témoin. Pour les larves traitées, l'activité de l'enzyme augmente avec le taux de radiation jusqu'au sixième jour. Pour les larves traitées avec des rayons à 500 et 1000 r, l'activité augmente au septième jour et baisse au huitième jour, tandis que pour les larves témoin et traitées (1500r) l'activité baisse au septième jour et augmente au huitième jour (Fig 4).

Nous avons analysé les résultats de manière statistique à un niveau de signification de 5 %. En conséquence, nous avons trouvé que a) le traitement, b) le développement (le jour), c) la source de l'enzyme, d) l'interaction entre le jour de développement et la source de l'enzyme et e) l'interaction entre le jour de développement et l'enzyme étaient significatifs sur le plan statistique (Tableau I).

Comme il existe une différence significative entre les traitements, nous avons fait le test de comparaison multiple de Dunnet (Li, 1964) (Tableau II). La conclusion que nous avons tiré est que :

i) Les traitements de 500 et 1000 r ne donnent pas de résultats sensiblement différents par rapport au témoin

ii) Les traitements avec 1500 r donnent des résultats différents du témoin

DISCUSSION

La consommation de feuilles du *B. mori* au cinquième âge représente plus de 75 % de tous les âges. Le cinquième âge absorbe beaucoup de nourriture pour accumuler assez de ressources énergétiques afin de soutenir son métabolisme pendant le développement adulte et pupal sans alimentation. Il se peut que les enzymes digestives jouent un rôle principal dans le corps des insectes en transformant des matières nutritives complexes en micromolécules nécessaires à la fourniture d'énergie et en métabolites pour assurer la croissance, le développement et d'autres fonctions vitales (Waterhouse, 1957 ; House, 1965a, 1965b ; Wigglesworth, 1972a, 1972b).

Ishaaya et coll., (1971), ont montré pendant leurs travaux sur les activités protéase et amylase des larves du ver du coton égyptien, *Spodoptera littoralis*, que certains facteurs protéiques présents dans la nourriture peuvent stimuler les enzymes digestives, sûrement par le biais d'un mécanisme hormonal. Sreekumar et Prabhu (1988) ont clairement démontré le rôle probable de l'intestin sur la stimulation de la sécrétion de l'enzyme digestive chez *Oryctes rhinoceros*. Une activité significativement plus élevée des enzymes de l'intestin pendant le cinquième âge témoigne d'un taux de synthèse des enzymes plus élevé, qui correspond à l'accroissement d'absorption de nourriture (Waldbauer, 1968). Seth et Sehgal (1985) ont constaté que des doses subléthales d'irradiations gamma (2 à 7 krad) entraînent des changements du profil nutritionnel des larves de *Spodoptera litura*. Nous pensons dans le cadre de cette étude que la nourriture stimule la production d'enzymes digestives dans l'intestin de *B. mori* au cinquième âge.

Les enzymes étant des protéines elles sont sensibles aux détériorations provenant des radiations. L'activité de l'enzyme peut augmenter ou baisser, selon le type d'enzyme, l'exposition à la radiation et la durée qui s'écoule entre le traitement et l'analyse. Dans l'étude présente, les activités d'enzymes digestives importantes, en l'occurrence l'amylase et la protéase, ont été significativement affectées par la radiation gamma. Chararas et coll., (1974) ont observé que l'irradiation à 2 ou 10 krad provoque une légère baisse de l'activité de l'amylase et de l'invertase dans la larve de *Phoracantha semipunctata*. Prasad et Sethi (1981) ont constaté que les activités amylase et protéase baissent sous des doses de radiation de gamma 15 et 20 k rad chez la mouche orientale du fruit, *Dacus dorsalis*.

Comme les résultats présents contredisent les rapports de ces auteurs, nous pensons que la longue période qui s'écoule (environ 1 génération) entre le traitement et l'analyse, amoindrit les changements métaboliques provoqués par l'irradiation, en conséquence, les larves présentent une meilleure activité de l'enzyme par rapport au témoin. L'activité élevée de l'amylase et de la protéase dans l'hémolymph et l'intestin tient peut-être à une plus grande utilisation des protéines exogènes pour permettre la production de plus de soie.

Nous présumons que le taux de synthèse de l'amylase et de la protéase des deux tissus étudiés dépend du rythme d'alimentation et que l'irradiation permet d'accroître encore plus l'activité des enzymes. Mais nous n'en savons pas beaucoup sur la relation entre les enzymes de l'hémolymph et de l'intestin. Comme l'hémolymph transporte les aliments assimilés, l'activité maximale des enzymes dans l'hémolymph correspond à celle de l'intestin au même jour de développement.

STUDIES ON THE MECHANISM OF MULBERRY RESISTANCE TO THE MULBERRY YELLOW DWARF DISEASE*

KUAI Y.-Z., ZHU F.-P., XIA Z.-S., CHEN P.-G.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Zhenjiang 212018, P.R. China.

*This article deals with the study on nine mulberry varieties having various resistance to the mulberry yellow dwarf disease (MYDD). It was discovered that phytoalexins isolated from their cortices showed high antibiotic activity and had a wide antibiotic spectrum. The phytoalexin concentration was measured by OD value at a wavelength of 335 μm . OD values of different varieties showed that their sequence was in accordance with their resistance to MYDD. TLC analysis revealed many bands in the phytoalexins, among which Rf 0.44-0.55 bands could significantly inhibit the growth of *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, which belongs to Procaryotae. At 338 μm , OD values of phytoalexin Rf 0.44-0.55 bands from different varieties tallied with their resistance to the disease. Therefore, measuring OD value of phytoalexin Rf 0.44-0.55 bands can help to understand mulberry resistance to MYDD. After further purification of phytoalexin Rf 0.44-0.55 bands from Yu-2, a mulberry variety showing strong resistance to MYDD, four single components, M1, M2, M3 and M4, were obtained, among which M2, M3 and M4 were identified as Moracin C, G and N, respectively. It was considered that the mechanism of mulberry resistance to MYDD has a close relation with the amount of phytoalexin induced in its cortex.*

Keywords: Mulberry, resistance, mulberry yellow dwarf disease, mycoplasma-like organism, resistant mechanism, phytoalexin, Moracin.

INTRODUCTION

Chinese mulberry yellow dwarf disease (MYDD) is a kind of typical mycoplasma-like organism (MLO) plant disease (Figures 1 and 2). There is widespread occurrence in vital sericultural regions of over 17 provinces in China.

Mulberry trees infected by the MYDD agent first show a reduction in leaf size and the accessory buds and lateral buds sprout earlier on the top. As the disease progresses, the leaves become smaller and turn golden yellow, the infected branches become rather slender and the internodes shorten. Dieback often follows infection. No syncarps appear on the affected branches. The infected trees normally die within 2 to 3 years. Thus, MYDD is a detrimental mulberry disease which causes serious damage to sericultural production.

Regarding the control, selecting and spreading varieties resistant to MYDD is one of the basic measures. We have already selected a number of varieties with high resistance and high leaf yield such as Yu-2, Husang-7 and Xiao Baitiao.

As early as 1940, Müller and Börger discovered the phytoalexin and drew seven conclusions about the mechanism of phytoalexin which ushered in a new theory in plants' disease-resistant mechanism (Müller and Börger, 1940; Müller, 1956). Since then, scholars of many countries have conducted studies on various phytoalexins produced by different plants. More than 60 kinds of

* Project supported by the National Natural Science Foundation of P.R. China.

phytoalexins and their components have been discovered. Mulberry phytoalexin was found and reported as well.



Fig. 1: Late stage symptoms on a mulberry tree infected by mulberry yellow dwarf disease.

Fig. 1 : Mûrier présentant les symptômes du stade final du nanisme jaune.

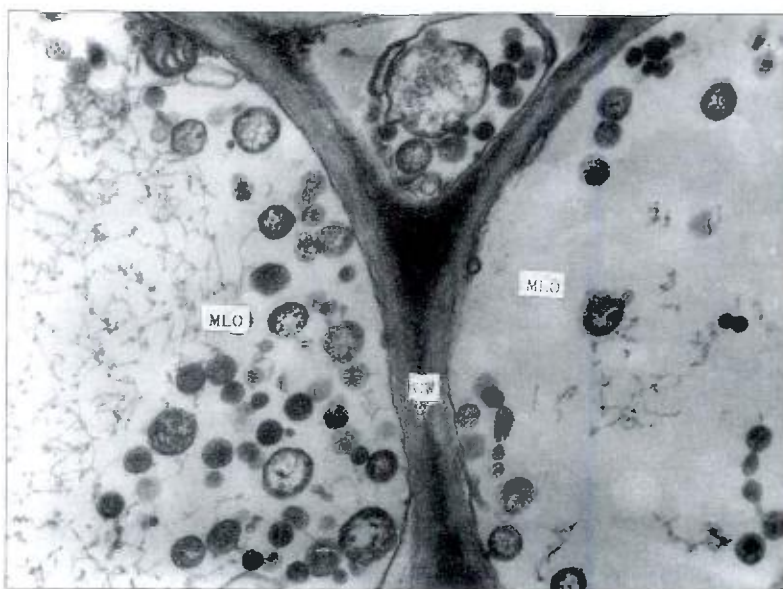


Fig. 2: Numerous mycoplasma-like organisms (MLOs) in sieve-tube cells of a mulberry leaf vein.

Magnification: 42,000 ×. CW: cell wall; MLO: mycoplasma-like organism.

Fig. 2 : Nombreux organismes analogues aux mycoplasmes dans les cellules du tube criblé d'une nervure de feuille de mûrier.

Grossissement : 42 000 ×. CW : paroi cellulaire ; MLO : organisme analogue aux mycoplasmes.

This article discusses the mechanism of mulberry's resistance to MYDD based on the studies on the effect of different components of mulberry phytoalexin in inhibiting the growth of relevant pathogens.

MATERIALS AND METHODS

1. Mulberry varieties:

Nine mulberry varieties with varied resistance to MYDD were used. They were Yu-2 (highly resistant), Husang-7 and Husang-199 (moderately resistant), Husang-32 and Shin Ichinose (susceptible), and Huangxin Caisang, Qing Huangsang, Xiao Baitiao and Husang-38 (resistance unknown). The branches were taken from 5-year-old trees of the above varieties, which had been pruned in mid-February and were stored at 2.5 °C for about 20 days. Hardwood cuttings which were 1 cm in diameter and 20 cm long were prepared with the lower portions of these branches.

2. Induction of phytoalexin in mulberry cortices of stems:

Phytoalexin was induced in cortex tissue of stems by inoculating mulberry yellow dwarf mycoplasma into inner sieve tube cells of the cortex. The method of induction and extraction of phytoalexin was according to our earlier reports (Kuai, 1987; Zhu *et al.*, 1994).

3. Identification of antibiotic activity of mulberry phytoalexin:

The antibiotic activity of mulberry phytoalexin was detected by the cup method. Concentration of mulberry phytoalexin was obtained by measuring its optical density with a spectrophotometer (Shimadzu UV-260) or with a dual wavelength TLC scanner (Shimadzu CS-910).

The fungal and bacterial species used for the identification were as follows:

- 1) *Fusarium solani* f. sp. *mori*
- 2) *F. lateritium* var. *mori*
- 3) *Myrothecium roridum*
- 4) *Collectotrichum morifolium*
- 5) *Drechslera oryzae*
- 6) *Pseudomonas syringae* pv. *mori*
- 7) *Ewinia carotovora* var. *carotovora*

4. Analysis of components and structures of mulberry phytoalexins:

Mulberry phytoalexin is made up of many components. Thin layer chromatography and column chromatography methods were employed to separate different single components of mulberry phytoalexins (Xu *et al.*, 1994; Zhu *et al.*, 1994).

RESULTS

1. Phytoalexins' antibiotic activity of different mulberry varieties:

Phytoalexins were induced from nine mulberry varieties. Their antibiotic activity was determined with those from the non-induced varieties as control. The results showed that the mulberry phytoalexin of cortex tissue had antifungal and antibacterial activity (Table I). It took effect to such mulberry pathogens as *Fusarium solani* f. sp. *mori*, *Myrothecium roridum*, *Pseudomonas syringae* pv. *mori* by creating inhibitive hole-slide. No effect was observed in inhibiting non-parasitical fungi and bacteria — *Drechslera oryzae* and *Ewinia carotovora* var. *carotovora*.

Phytoalexins from different mulberry varieties showed various resistance to MYDD. The sequence of MYDD-inoculated incidence in the hole-slide method tallied with that of OD value at 335 µm. The resistance was Yu-2 > Qing Huangsang > Husang-7 > Xiao Baitiao > Huangxin Caisang > Husang-38 > Shin Ichinose > Husang-32, among which Husang-199 occurred irregular (Table II).

Mulberry phytoalexin was dissolved in acetone solution and scanned at a range of wavelengths of 320-700 µm. The extract from the non-induced tissue showed three peaks of OD values at 325 µm, 410 µm and 665 µm. That from the induced tissue only showed one peak at 335 µm. So, by measuring the OD value at 335 µm, the phytoalexin concentration could be obtained (Figures 3 and 4).

Table I. Antibiotic spectra of mulberry phytoalexin from cortices of stems.

Tableau I. Spectres antibiotiques des phytoalexines de mûrier issues des écorces de tige.

Fungal and bacterial strain	Antibiotic activity of phytoalexin at various Rf values				
	0.3-0.4	0.44-0.55	0.61-0.64	0.72-0.85	0.87-0.93
<i>Souches fongiques et bactériennes</i>	<i>Activité antibiotique des phytoalexines à différentes valeurs Rf</i>				
	0.3-0.4	0.44-0.55	0.61-0.64	0.72-0.85	0.87-0.93
<i>F. solani</i>	0.86	1.75	0.80	0.80	1.14
<i>F. lateritium</i>	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
<i>M. roridum</i>	0.80	2.66	0.80	0.80	1.94
<i>C. morifolium</i>	0.80	1.10	0.80	0.80	1.10
<i>D. oryzae</i>	0.80	1.42	0.80	0.80	0.82
<i>Ps pv. mori</i>	0.80	1.00	0.80	0.80	0.80
<i>E. carotovora</i>	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80

Figures are diameters of inhibitive hole-slides (mm). Critical value was 0.80.

Les chiffres indiquent les diamètres des lames perforées inhibitrices (mm). L'intervalle de confiance est de 0.80.

Table II. Determination of mulberry's resistance to MYDD.

Tableau II. Détermination de la résistance du mûrier au nanisme jaune.

Mulberry variety	Inoculated, incidence of MYDD (%)	Hole-slide method (mm)	Optical density (at 335 µm)
<i>Variété de mûrier</i>	<i>Inoculation, incidence du nanisme jaune</i>	<i>Méthode des lames perforées (mm)</i>	<i>Mesures densitométriques (à 335 µm)</i>
Yu-2	0 (1)	2.448 (1)	0.297 (1)
Husang-7	15.15 (4)	2.283 (3)	0.118 (3)
Husang-32	71.41 (8)	1.985 (8)	0.027 (8)
Husang-38	38.34 (6)	2.198 (5)	0.113 (5)
Husang-199	9.50 (2)	2.124 (7)	0.050 (7)
Huangxin Caisang	20.00 (5)	2.133 (6)	0.116 (4)
Qing Huangsang	9.52 (3)	2.384 (2)	0.115 (5)
Xiao Baitiao	0 (2)	2.251 (4)	0.138 (2)
Shin Ichinose	78.14 (9)	1.944 (9)	0.024 (9)

Figures in parentheses indicate the order of determination.

Les chiffres entre parenthèses indiquent l'ordre de détermination.

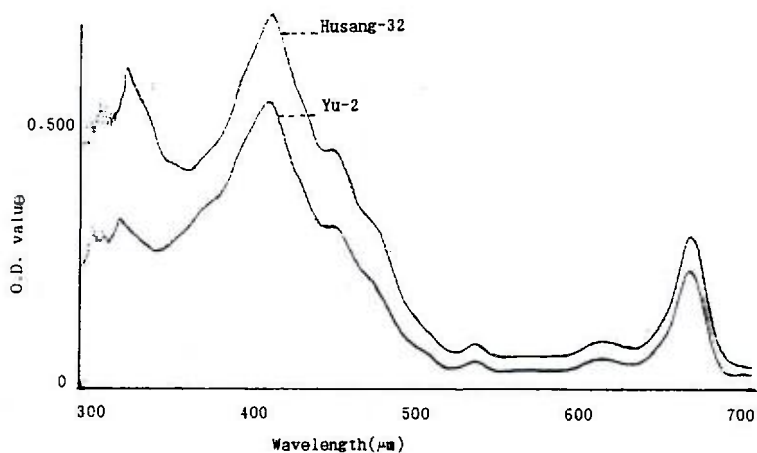


Fig. 3: OD spectra of extracts from cortices of non-induced mulberry shoots.

Fig. 3 : Spectres densitométriques d'extraits d'écorce de pousses de mûrier non induites.

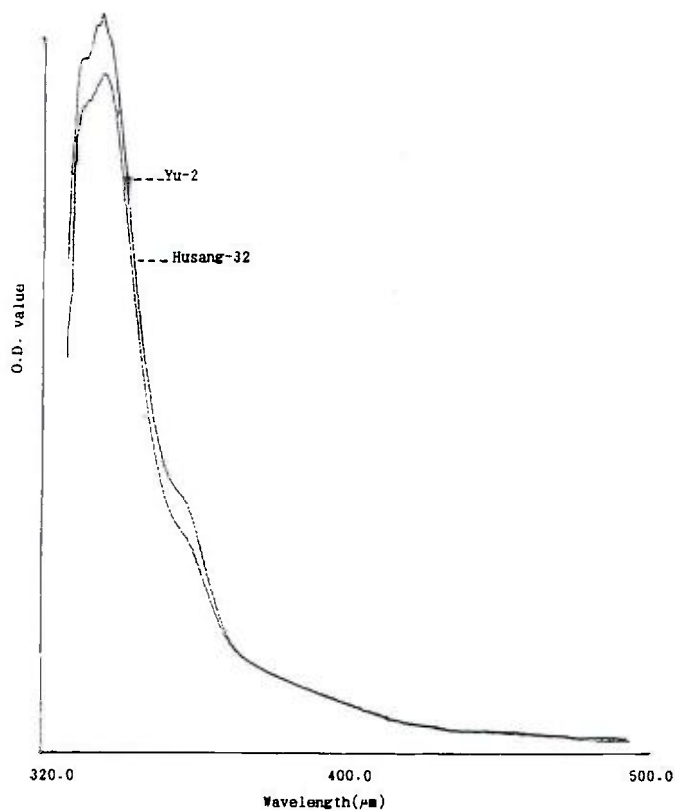


Fig. 4: OD spectra of extracts from cortices of induced mulberry shoots.

Fig. 4 : Spectres densitométriques d'extraits d'écorce de pousses de mûrier induites.

2. Phytoalexins' antibiotic spectra of single components:

Phytoalexin induced from mulberry cortex tissue had many different components. By means of TLC, a number of bands were separated, among which 5 bands (Rf 0.3-0.4, 0.44-0.48, 0.54-0.55, 0.76-0.78 and 0.88-0.93) had outstanding antibiotic activity, and in particular, bands of Rf 0.44-0.55 showed antibacterial activity to *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (Figures 5 and 6).

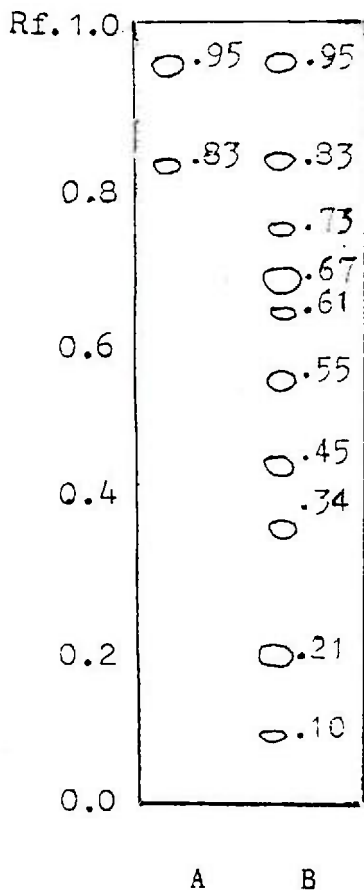


Fig. 5: Spectra of TLC bands of mulberry phytoalexin from cortices of stems.

Fig. 5 : Spectres des bandes obtenues par chromatographie en couche fine des phytoalexines de mûrier issues d'écorces de tige.

A: Non-induced / Non induit.

B: Induced / Induit.

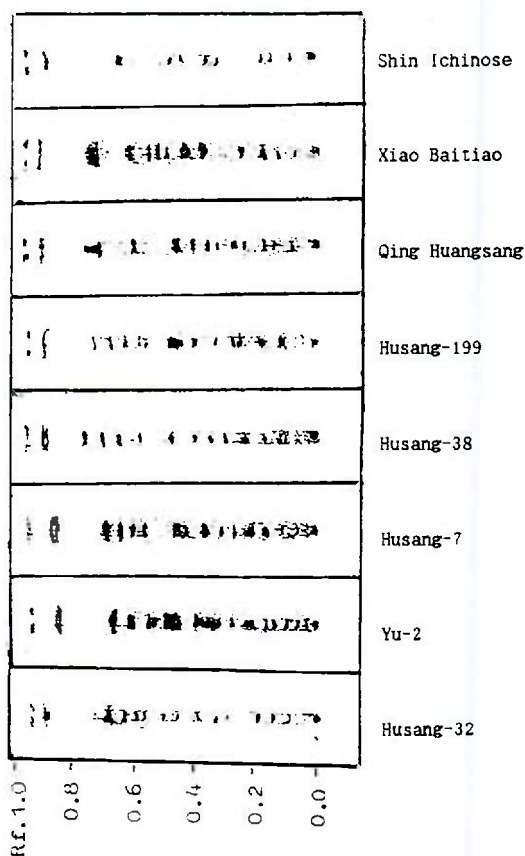


Fig. 6: Spectra of TLC bands of phytoalexin from cortices of stems of different mulberry varieties.

Fig. 6 : Spectres des bandes obtenues par chromatographie en couche fine des phytoalexines d'écorces de tige de différentes variétés de mûrier.

3. Measuring the concentration of phytoalexin Rf 0.44-0.55 of different mulberry varieties:

Phytoalexin of Rf 0.44-0.55 bands was analyzed through a TLC scanner. It showed that there was an absorption peak at 338 μm . The concentration of phytoalexin of Rf 0.44-0.55 bands could be calculated from the absorption peak value. The peak value of different mulberry varieties was compared to establish the sequence as follows: Yu-2 > Husang-199 > Husang-7 > Shin Ichinose > Husang-32, which tallied with their resistance to MYDD (Table III).

Table III. Determination of the concentration of mulberry varietal phytoalexin Rf 0.44-0.55 bands by TLC.

Tableau III. Détermination de la concentration en phytoalexine des différentes variétés de mûrier pour les bandes Rf 0,44-0,55 par chromatographie en couche fine.

Test varieties	Inoculated, incidence of MYDD (%)	Phytoalexin concentration
<i>Variétés testées</i>	<i>Inoculation, incidence du nanisme jaune</i>	<i>Concentration en phytoalexines</i>
Yu-2	0 (1)	28.85 (1)
Xiao Baitiao	0 (2)	28.80 (2)
Husang-199	9.50 (3)	15.81 (3)
Qing Huangsang	9.52 (4)	15.70 (4)
Husang-7	15.15 (5)	15.30 (5)
Huangxin Caisang	20.00 (6)	15.24 (6)
Husang-38	38.34 (7)	15.20 (7)
Husang-32	71.41 (8)	8.30 (8)
Shin Ichinose	78.14 (9)	7.85 (9)

Figures in parentheses indicate the order of determination / Les chiffres entre parenthèses indiquent l'ordre de détermination.

4. Chemical structure of single components of mulberry phytoalexin:

Phytoalexin of Rf 0.44-0.55 bands of Yu-2, a mulberry variety with strong resistance to MYDD, was collected and dissolved in acetone to isolate single components through column chromatography. In the ethyl acetate part appeared four components — M1, M2, M3 and M4. They brought in high antibacterial activity. Among them, M1 was of a light dark-colored colloid. Its structure was unknown.

M2 was white crystals with mp. 198-199 °C, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 215.6, 307.6 and 321.4; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6 , 400 MHz 8): 1.58 (3H, s, 3''-CH₃), 3.72 (2H, m, S''-CH₂), 4.46 (2H, br, s, Z-CH₂), 5.72 (1H, m, 4'-H), 6.38 (1H, t, J = 2.1 Hz, z, 4'-H), 6.89 (2H, d, J = 2.1 Hz, z, 2', 6'-H) and 6.95 (1H, d, J = 8.1 Hz, z, 4H). The obtained data corresponded with the structure of Moracin G as reported in the literature (Takasugi *et al.*, 1979).

M3 was white crystals as well. The obtained data corresponded with the structure of Moracin C as reported in the literature (Takasugi *et al.*, 1978).

M4 was also white crystals. The obtained data corresponded with the structure of Moracin N as reported in the literature (Shirata *et al.*, 1983).

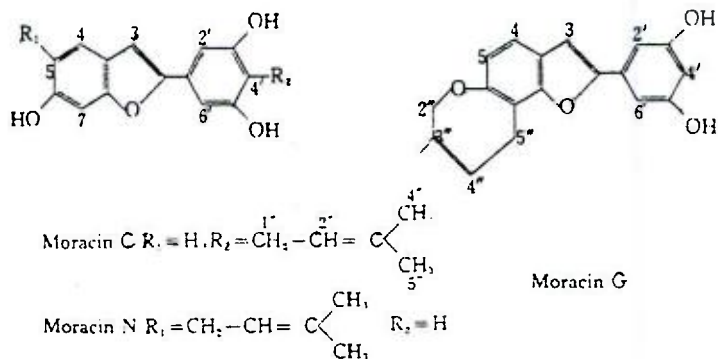
The structures of M2, M3 and M4 are showed in Fig. 7.

DISCUSSION AND CONCLUSION

1. Phytoalexin is a post-inhibitant material. It is produced by an inhibitive mechanism of genetic factor, probably produced through activating the inactive latent enzyme system. It was understood as the mechanism of disease-resistance.

Fig. 7: Structural formula of Moracin C, N and G of mulberry phytoalexin isolated from Rf 0.44-0.55 bands by TLC.

Fig. 7: Formule chimique des Moracines C, N et G des phytoalexines de mûrier isolées sur les bandes Rf 0,44 à 0,55 par chromatographie en couche fine.



Phytoalexin induced from mulberry cortex tissue brings in antibiotic activity and wide antibiotic spectra. These are effective to mulberry pathogens — *Fusarium solani* f. sp. *mori*, *F. lateritium* var. *mori*, *Myrothecium roridum* and *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, but not effective to non-parasitical mulberry fungi and bacteria. The phytoalexin concentration can be measured with the OD value at 335 μm by using a spectrophotometer.

Test on nine mulberry varieties and their resistance to MYDD confirmed that the varied phytoalexin concentrations of different varieties and their resistance to MYDD were corresponding.

2. Test of TLC revealed that the Rf 0.44-0.55 bands are inhibitive substances to bacterium — *Pseudomonas syringae* pv. *mori*. The phytoalexin concentration can be calculated from the peak area by TLC scanner at 338 μm . It was discovered that phytoalexin concentrations of different mulberry varieties from Rf 0.44-0.55 bands tallied with their resistance to MYDD.

3. Rf 0.44-0.55 bands of Yu-2 was further purified, and four single components, M1, M2, M3 and M4, were obtained. Among them, M2, M3 and M4 were identified as Moracin C, G and N, respectively, by spectral elucidation and comparison with reported data in the literature.

We believe that these phytoalexins are relevant to the mechanism of mulberry's resistance to MYDD. We also recognize the fact that analysis of components and contents of mulberry's phytoalexins are to be further studied.

REFERENCES

- KUAI Y.Z. (1987) Relationship between varietal phytoalexin and resistant disease. The 2nd East China Conference of Phytopathology.
- MÜLLER K.O., BÖRGER H. (1940) Arch. Biol. Reichsanstalt land-u-Fortwirtsch Berlin, 23, 189-231.
- MÜLLER K.O. (1956) Einige einfache versuche zum Nachweis von Phytoalexin. Phytopath. Z., 27, 237-254.
- SHIRATA K., TAKAHASHI K., TAKASUGI M., NAGAO S., ICHIKAWA S., UENO S., MUNOZ L., MASAMUNE T. (1983) Antimicrobial spectra of the compounds from mulberry. Bull. Sericult. Exp. Sta., 28, 793-805.
- TAKASUGI M., NAGAO S., UENO S., MASAMUNE T., SHIRATA A., TAKAHASHI K. (1978) Moracin C and D, new phytoalexins from diseased mulberry. Chem. Lett., 11, 1239-1240.
- TAKASUGI M., NAGAO S., MASAMUNE T. (1979) Structures of Moracin E, F, G and H, new phytoalexins from diseased mulberry. Tetrahedron Lett., 48, 4675-4678.
- YU Y.M., GU Y.L., WU J.M., CHEN P.G., KUAI Y.Z., XIA Z.S. (1994) Studies on phytoalexin of mulberry: phytoalexin analysis from mulberry bark of MYDD-resistant variety — Yu-2. Acta Sericologica Sinica, 20, 77-79.
- ZHU F.P., KUAI Y.Z. (1994) Primary studies on mulberry phytoalexin. Acta Sericologica Sinica, 20, 72-76.

ETUDES SUR LE MECANISME DE RESISTANCE DU MURIER A LA MALADIE DU NANISME JAUNE *

KUAI Y.-Z., ZHU F.-P., XIA Z.-S., CHEN P.-G

The Sericulture Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018,
P.R. Chine.

*Cet article concerne l'étude de neuf variétés de mûrier offrant des résistances variées à la maladie du nanisme jaune (MYDD). Nous avons découvert que les phytoalexines isolées de l'écorce ont une grande activité antibiotique et un spectre antibiotique large. La concentration en phytoalexine est mesurée par densitométrie optique à une longueur d'onde de 335 µm. Les valeurs de densités optiques de différentes variétés sont en accord avec leur résistance au nanisme jaune. L'analyse par chromatographie en couches minces a décelé de nombreuses bandes de phytoalexines, parmi lesquelles les bandes de Rf 0,44-0,55 qui peuvent inhiber significativement la croissance de *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, qui appartient aux Procaryotes. A 338µm, les valeurs densitométriques des bandes Rf 0,44-0,55 de phytoalexines de différentes variétés correspondent à leur résistance à la maladie. La mesure des bandes Rf 0,44-0,55 de phytoalexines permet de mieux comprendre la résistance du mûrier au nanisme jaune. Après avoir repurifié les bandes Rf 0,44-0,55 de phytoalexine de Yu-2, une variété de mûrier très résistante au nanisme jaune, nous identifions quatre composants individuels, M1, M2, M3 et M4, parmi lesquels M2, M3, et M4 sont identifiés respectivement comme de la Moracine C, G et N. Nous estimons que le mécanisme de résistance du mûrier au nanisme jaune est en étroite relation avec la quantité de phytoalexine induite dans l'écorce.*

INTRODUCTION

La maladie chinoise du nanisme jaune du mûrier (MYDD) est une forme typique de maladie végétale due à un organisme analogue au mycoplasme (MLO) (Figures 1 et 2). Elle est répandue dans des régions où la sériciculture est vitale dans plus de 17 provinces en Chine.

Les mûriers infestés par l'agent du nanisme se caractérisent au départ par une réduction de la taille de leurs feuilles et par un débourrement plus précoce de leurs bourgeons accessoires et latéraux. Au fur et à mesure que la maladie progresse, les feuilles rétrécissent et prennent une couleur jaune doré, les branches infestées deviennent plus étroites et les internœuds raccourcissent. Le dépérissement suit souvent la contamination. Les arbres infestés meurent normalement au bout de 2 à 3 ans. Le nanisme jaune est donc une maladie nuisible du mûrier très néfaste pour la production séricicole.

L'une des mesures fondamentales pour la contrôler consiste en la sélection et l'utilisation de variétés résistantes au nanisme jaune. Nous avons déjà sélectionné un certain nombre de variétés à la résistance et au rendement en feuilles élevés, en l'occurrence Yu-2, Husang-7 et Xiao Baitiao.

Müller et Börger ont découvert la phytoalexine en 1940 et ont tiré sept conclusions sur son mécanisme, ce qui a permis une nouvelle théorie sur le mécanisme de résistance à la maladie chez les plantes (Müller et Börger, 1940; Müller, 1956). Depuis, des spécialistes de nombreux pays ont effectué des recherches sur les phytoalexines variées produites par les plantes. Plus de 60 types de phytoalexines et de composants ont été découverts. La phytoalexine du mûrier a aussi été découverte.

*.Projet soutenu financièrement par le National Natural Science Foundation of P.R Chine.

Cet article présente le mécanisme de résistance du mûrier au nanisme jaune à partir de recherches sur l'effet des différents composants de la phytoalexine du mûrier sur l'inhibition de la croissance des pathogènes concernés.

MATERIELS ET METHODES

1. Variétés de mûriers :

Nous utilisons neuf variétés de mûriers présentant une résistance variée au nanisme jaune. Elles comprennent Yu-2 (hautement résistante), Husang-7 et Husang-199 (modérément résistantes), Husang-32 et Shin Ichinose (sensible), et Huangxin Caisang, Qing Huangsang, Xiao Baitiao et Husang-38 (résistance inconnue). Nous utilisons des branches provenant d'arbres âgés de cinq ans des variétés ci-dessus, ayant été taillées à la mi-Février et conservées à 2,5° C pendant environ 20 jours. Nous préparons des boutures de bois dur de 1 cm de diamètre et de 20 cm de long à partir des parties les plus basses de ces branches.

2. Induction de la phytoalexine dans les écorces des tiges de mûrier :

Nous induisons la phytoalexine dans les tissus de l'écorce des tiges en inoculant le mycoplasme du nanisme jaune du mûrier dans les cellules des tubes criblés intérieurs de l'écorce. Nous avons utilisé cette méthode d'induction et d'extraction de la phytoalexine en nous appuyant sur nos rapports précédents (Kuai, 1987. Zhu et coll, 1994).

3. Identification de l'activité antibiotique de la phytoalexine du mûrier :

L'activité antibiotique de la phytoalexine du mûrier est détectée d'après la méthode de la coupelle. Nous observons la concentration en phytoalexine du mûrier en mesurant sa densité optique avec un spectrophotomètre (Shimadzu UV-260) ou avec un scanner de chromatographie en couche mince à double faisceau (Shimadzu CS-910).

Les espèces fongiques et bactériennes utilisées pour l'identification sont les suivantes :

- 1) *Fusarium solani* f. sp. *mori*
- 2) *F. lateritium* var. *mori*
- 3) *Myrothecium roridum*
- 4) *Collectotrichum morifolium*
- 5) *Drechslera oryzae*
- 6) *Pseudomonas syringae* pv. *mori*
- 7) *Ewinia carotovora* var. *carotovora*

4) Analyse des composants et des structures des phytoalexines des mûriers :

La phytoalexine du mûrier est formée de nombreux composants. Nous employons les méthodes de chromatographie en couche mince et de chromatographie sur colonnes pour séparer les différents composants individuels des phytoalexines du mûrier (Xu et coll, 1994 ; Zhu et coll, 1994).

RESULTATS

1. Activité antibiotique des phytoalexines de différentes variétés de mûriers :

Les phytoalexines de neuf variétés de mûriers ont été induites. Nous déterminons leur activité antibiotique en les comparant à celle de variétés non induites prises comme témoins. Les résultats montrent que la phytoalexine du tissu de l'écorce a une activité antifongique et antibactérienne (Tableau 1). Elle a un effet sur des pathogènes du mûrier tels que *Fusarium solani* f. sp. *mori*, *Myrothecium roridum*, *Pseudomonas syringae* pv. *mori* grâce à la création d'une plage inhibitrice sur lame. Aucun effet inhibiteur n'est observé sur des champignons et des bactéries non-parasites — *Drechslera oryzae* et *Ewinia carotovora* var. *carotovora*.

Les phytoalexines de différentes variétés de mûrier présentent des résistances variées au nanisme jaune. L'ordre d'incidence du nanisme jaune mesuré par la technique de la plage inhibitrice sur lame correspond à celui obtenu pour la valeur densitométrique à 335 µm. La résistance se présente ainsi

Yu2 > Qing Huangsang > Husang 7 > Xiao Baitiao > Huangxin Caisang > Husang-38 > Shin Ichinose > Husang-32, tandis que Husang-199 est irrégulière (Tableau II).

Nous dissolvons la phytoalexine du mûrier dans une solution d'acétone et la passons au balayage optique à des longueurs d'onde comprises entre 320-700 μm . L'extrait de tissu non-induit présente des pics à 325 μm , 410 μm et 665 μm . Ceux des tissus induits ne présentent qu'un pic à 335 μm . Ainsi, il est possible d'obtenir la concentration en phytoalexine en mesurant la valeur densitométrique à 335 μm (Figures 3 et 4).

2. Spectres antibiotiques des composants individuels des phytoalexines:

La phytoalexine induite du tissu de l'écorce du mûrier contient de nombreux composants différents. En utilisant la chromatographie en couche mince, nous avons séparé un certain nombre de bandes, parmi lesquelles 5 bandes (Rf 0,3-0,4, 0,44-0,48, 0,54-0,55, 0,76-0,78 et 0,88-0,93) présentent une activité antibiotique remarquable, en particulier les bandes Rf 0,44-0,55 qui ont une activité antibactérienne sur *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (Figures 5 et 6).

3. Mesure de la concentration en phytoalexine Rf 0,44-0,55 de différentes variétés de mûriers:

Nous avons procédé à l'analyse de la phytoalexine des bandes Rf 0,44-0,55 avec un scanner de chromatographie en couches minces. Nous avons observé un pic d'absorption à 338 μm . On peut calculer la concentration en phytoalexine des bandes Rf 0,44-0,55 à partir de la valeur d'absorption au pic. Après avoir comparé les valeurs maximales des différentes variétés de mûrier nous avons déterminé l'ordre suivant : Yu-2 > Husang-199 > Husang-7 > Shin Ichinose > Husang 32, qui coïncide avec leur résistance au nanisme jaune (Tableau III).

4. Structure chimique des composants individuels de la phytoalexine du mûrier:

Nous avons recueilli la phytoalexine des bandes Rf 0,44-0,55 de Yu-2, une variété très résistante au nanisme jaune et l'avons dissoute dans de l'acétone pour en isoler les composants individuels par chromatographie sur colonnes. Quatre composants apparaissent dans la partie d'acétate éthylique : M1, M2, M3 et M4. Ils ont une grande activité anti-bactérienne. Parmi eux, M1 se présente sous la forme d'un colloïde légèrement sombre. Sa structure est inconnue.

M2 se présente sous la forme de cristaux blancs avec un point de fusion à 198 - 199° C, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm) : 215,6, 307,6 et 321,4 ; $^1\text{H-NMR}$ (acétone- d_6 , 400 MHz δ) : 1,58 (3H, s, 3''-CH₃), 3,72 (2H, m, 5''-CH₂), 4,46 (2H, br. s, Z-CH₂), 5,72 (1H, m, 4''-H), 6,38 (1H, t, J = 2, 1H, z, 4'-H), 6,89 (2H, d, J = 2, 1H, z, 2', 6'-H) et 6,95 (1H, d, J = 8, 1H, z, 4H). D'après la bibliographie (Takasugi et coll., 1979), les données obtenues correspondent à la structure de la Moracine G.

M3 donne également des cristaux blancs. D'après la bibliographie (Takasugi et coll., 1978), il correspond à la structure de la Moracine C.

M4 donne aussi des cristaux blancs. Sa structure, d'après les données obtenues, correspond à la structure de la Moracine N, ainsi que l'indique la bibliographie (Shirata et coll., 1983).

Les structures de M2, M3 et M4 sont présentées dans la Fig. 7.

DISCUSSION ET CONCLUSION

1. La phytoalexine est une matière post-inhibitrice. Elle est produite par un mécanisme inhibiteur dû à un facteur génétique, qui s'effectue probablement par l'activation du système enzymatique inactif latent. On le considère comme le mécanisme de résistance à la maladie.

La phytoalexine induite à partir du tissu de l'écorce de mûrier a une activité antibiotique et un large spectre antibiotique. Elle est efficace sur des pathogènes du mûrier — *Fusarium solani* f. sp. *mori*, *F. lateritium* var. *mori*., *Myrothecium roridum* et *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, mais inefficace envers des champignons et des bactéries non parasites du mûrier. On peut mesurer la concentration en phytoalexine par valeur densitométrique à 335 μm en utilisant un spectrophotomètre.

Les essais réalisés sur neuf variétés de mûriers et leur résistance au nanisme jaune confirment que les concentrations variées en phytoalexines de variétés différentes correspondent à leur résistance au nanisme jaune.

2. Les essais de chromatographie en couche mince révèlent que les bandes Rf 0,44-0,55 sont des substances qui inhibent les bactéries — *Pseudomonas syringae* pv. *mori*. On peut calculer la concentration en phytoalexine par la surface du pic obtenue par balayage de la chromatographie en couche mince à 338 μ m. Nous avons découvert que les concentrations en phytoalexine des bandes Rf 0,44-0,55 de différentes variétés de mûrier coïncident avec leur résistance au nanisme jaune.

3. Après avoir repurifié les bandes Rf 0,44-0,55 de Yu2 nous avons obtenu quatre composants individuels M1, M2, M3 et M4. Parmi eux, nous avons identifié par étude du spectre et par comparaison avec des renseignements contenus dans la bibliographie, M2, M3 et M4 comme respectivement de la Moracine C, G et N.

Nous pensons que ces phytoalexines ont un rapport avec le mécanisme de résistance du mûrier au nanisme jaune. Nous sommes aussi d'avis que des recherches supplémentaires sur l'analyse des composants et des contenus en phytoalexines du mûrier doivent être entreprises.

EFFECT OF RINGING ON THE PROPAGATION OF MULBERRY CUTTINGS

A. TIKADER, K. VIJAYAN, R.N. DUTTA, B.N. ROY & T. PAVAN KUMAR

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

*Propagation studies were conducted in a Japanese mulberry variety, Kosen (*Morus latifolia* Poir), by making ring and compared with unringed cuttings at the Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, India. The position-wise survivability of cuttings was recorded after 90 days. The maximum survival was found in ringed cuttings (R1-R6), which ranged from 24.00-88.00%, and the minimum in unringed cuttings (C1-C6), which ranged from 4.00-32.00%. Nitrogen, protein and carbohydrate contents were recorded to be maximum in ringed cuttings. The analysis of variance of all parameters was significant at $P < 0.01$.*

Keywords: Mulberry, propagation, ringing, biochemical analysis.

INTRODUCTION

Mulberry propagation in India is mainly followed through stem cuttings. Different genotypes vary in their rooting efficiency, with some genotypes responding well and others exhibiting a poor response in rooting. High-yielding strains/varieties do not necessarily possess a better rooting ability and hence this factor has been a subject of extensive studies in mulberry. Mukherjee and Sikdar (1974) tried the effect of ringing on a low-rooting, high-yielding strain (S146) and found that ringing improved the number of primary roots and dry weight. Chakraborti and Mukherjee (1980) found a higher survival percentage in ringed cuttings (var. Kosen) as compared to unringed. Mukherjee and Sikdar (1971) reported increased rooting following different hormonal treatments in a Japanese variety (Kosen). Position-wise cutting and its effect on rooting from the point of ringing were tried (Anonymous, 1978-79). But no information is available on the biochemical changes that occur following ring formation, which ultimately enhances rooting efficiency in mulberry.

Attempts were therefore made to study the effect of ringing and associated biochemical changes in mulberry under tropical conditions and the results are presented in this paper.

MATERIALS AND METHODS

Six-month-old twigs of a temperate, poor-rooting Japanese variety of mulberry, Kosen (*Morus latifolia* Poir), were used in this study. Ringing was done at a height of 5 cm from the ground level in each twig. After 30 days, 6 cuttings of 15 ± 2 cm in length and 1.3 to 1.5 cm in diameter with 4 to 5 well-developed active buds were taken in ascending order above the ring and were designated R1, R2, R3, R4, R5 and R6. An equal number of cuttings of similar dimension were taken from unringed twigs of the same age as that of the ringed ones and were denoted C1, C2, C3, C4, C5 and C6. Both these types of cuttings were planted in the soil following the random block design method with 3 replications and 100 cuttings in each replication. After 90 days of planting, data on survival were recorded and chemical analysis of the cuttings in all the treatments was carried out. The total nitrogen percentage (on an oven dry basis) was determined by Kjeldahl method and the protein percentage was calculated by multiplying the nitrogen percentage by factor 6.25 (Roy *et al.*, 1973). Sugar was estimated by the Anthrone method (AOAC, 1960).

RESULTS AND DISCUSSION

It is evident from the data summarised in Table I that the ringing treatment with a survivability of cuttings ranging from 24.0 to 88.0% was far superior to unringed cuttings (control), in which survival ranged between 4.0 and 32.0% only. As regards the position of cuttings, it was observed that the maximum survival percentage of 88.0 was recorded in ringed (R1) cuttings, which gradually decreased with the increase in distance from ringed position, culminating at 24.0% in R6. The trend was essentially the same in unringed cuttings also. The chemical analysis showed that the total nitrogen percentage was higher in ringed cuttings from R1-R6 (0.70-1.10%). Consequently, the protein content was maximum in ringed cuttings (4.38-7.42%) compared to unringed cuttings (3.67-5.90%). Similarly, ringed cuttings were rich in carbohydrate content (0.81-2.23%) compared to unringed cuttings (0.39-0.72%). The analysis of variance for survival percentage, total nitrogen percentage, protein percentage and carbohydrate percentage was significant ($P < 0.01$).

Table I. Survival percentage and biochemical parameters of Kosen cuttings.

Tableau I. Taux de survie et paramètres biochimiques des boutures de Kosen.

Treatment	Average survival percentage after 90 days	Percentages on an oven dry basis		
		Nitrogen	Protein	Carbohydrate
Traitement	Taux de survie moyen après 90 jours	Teneurs (base par séchage au four)		
		Azote	Protéines	Hydrates de carbone
R1	88.00	1.19	7.42	2.23
R2	78.00	1.03	6.42	1.92
R3	36.00	1.01	6.42	1.43
R4	33.33	0.90	5.61	1.06
R5	28.00	0.80	5.02	1.06
R6	24.00	0.70	4.33	0.81
CD ($P = 0.05$)	18.85	0.11	0.66	0.22
C1	32.00	0.94	5.90	0.72
C2	21.33	0.84	5.25	0.63
C3	14.67	0.78	4.90	0.53
C4	12.00	0.75	4.65	0.50
C5	5.33	0.69	4.31	0.41
C6	4.00	0.59	3.67	0.39
CD ($P = 0.05$)	11.62	0.08	0.47	0.04

The higher survival rate in ringed cuttings against unringed and the effect of the position of cuttings on the survivability reported in this paper conform to previous results (Anonymous, 1978-79).

However, the biochemical analysis, which reveals a gradual decrease in total nitrogen, protein and carbohydrate with the position of cuttings from the 1st to the 6th place in ringed cuttings as well as in unringed cuttings, throws light on the reasons supporting the above observations. As a whole, the study also explains the chemical basis of ringing being superior to non-ringing in mulberry cuttings as the accumulation of total nitrogen, protein and carbohydrate percentage was higher in ringed cuttings, thereby providing better reserve of food supply during their root initiation, ultimately resulting in their increased survivability.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1978-79) Studies on the rooting behaviour of Kosen cutting taken from different distances from the point of ringing. p. 9-19. Annual Report, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore.
- AOAC (1960) Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, DC
- CHAKRABORTI S., MUKHERJEE S.K. (1980) Effect of ringing, growth promoters and sucrose either singly or in combination on the rooting of poor rooting in mulberry (var. Kosen). pp. 73-77. Proceedings Sericulture Symposium and Seminar, Tamil Nadu Agricultural University.
- MUKHERJEE S.K., SIKDAR A.K. (1974) Effect of ringing and application of growth regulators and vitamins on the propagation of mulberry cuttings. *Indian J. Seric.*, 13(1), 1-10.
- MUKHERJEE S.K., SHARMA D.N. (1971) Effect of some growth regulators on the rooting of mulberry cuttings. *Indian J. Seric.*, 10(1), 23-27.
- RAY D., MONDAL L.N., PAIN A.K., MONDAL S.K. (1973) Effect of NPK and farm yard manure on the leaf yield and nutritive value of mulberry leaf. *Indian J. Seric.*, 12, 7-12.

EFFETS DU BAGUAGE SUR LA MULTIPLICATION DE BOUTURES DE MURIER

A. TIKADER, K. VIJAYAN, R.N. DUTTA, B.N. ROY & T. PAVAN KUMAR

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

*Nous avons entrepris des recherches au Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, Inde, sur la propagation d'une variété japonaise de mûrier, Kosen (*Morus latifolia* Poir), en effectuant des baguages et en les comparant avec des boutures non baguées. Nous avons enregistré le taux de survie au bout de 90 jours. Le taux de survie maximum est celui des boutures baguées (R1-R6), qui est compris entre 24 et 88 % et le minimum celui des boutures non baguées (C1-C6), compris entre 4 et 32 %. On enregistre les teneurs maximales en azote, protéines et hydrates de carbone chez les boutures baguées. L'analyse de variance de tous les paramètres est significative à $P < 0.01$.*

INTRODUCTION

La propagation du mûrier en Inde s'effectue principalement par bouturage de tiges. L'efficacité de racinement dépend des génotypes, certains répondant bien et d'autres présentant une faible capacité de racinement. Les variétés à haut rendement ne présentent pas nécessairement une capacité de racinement meilleure et ainsi ce facteur a fait l'objet d'études poussées chez le mûrier. Mukherjee et Kikdar (1974) ont utilisé le baguage avec une variété à faible capacité de racinement et haut rendement (S146) et ont découvert que le baguage accroît le nombre de racines primaires et augmente le poids sec. Chakraborti et Mukherjee (1980) ont découvert que les boutures baguées ont un taux de survie plus élevé (var. Kosen) que les boutures non baguées. Mukherjee et Kikdar (1971) ont observé un accroissement du racinement chez une variété japonaise (Kosen) à la suite de différents traitements hormonaux. La position du baguage et son effet sur le racinement à la hauteur du baguage a été étudiée (Anonyme, 1978-79). Mais on ne dispose pas d'informations sur les changements biochimiques qui surviennent à la suite de la formation du baguage, lequel en fin de compte améliore l'efficacité du racinement chez le mûrier.

Nous avons donc essayé d'étudier les effets du baguage chez le mûrier et les changements biochimiques qui lui sont associés dans des conditions tropicales et nous en présentons les résultats dans cet article.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons utilisé pour cette étude des rameaux de six mois d'une variété japonaise tempérée, à faible capacité de racinement, Kosen (*Morus latifolia* Poir). Le baguage a été effectué à 5 cm du sol pour chaque rameau. Trente jours après, nous avons prélevé six boutures de 15 - 2 cm de longueur et de 1,3 à 1,5 cm de diamètre avec 4 à 5 bourgeons bien développés dans un ordre ascendant au-dessus de la bague, que nous avons désignés R1, R2, R3, R4, R5 et R6. Nous avons prélevé un nombre égal de boutures de dimension similaire sur des plants non bagués, du même âge que les plants bagués, et nous les avons nommés C1, C2, C3, C4, C5 et C6. Nous avons planté ces deux types de boutures en terre selon la méthode de blocs aléatoires avec 3 réplicats et 100 boutures dans chaque réplicat. Nous avons recueilli les données sur la survie des boutures quatre vingt dix jours après la plantation et nous avons procédé à l'analyse chimique des boutures pour tous les traitements. Nous avons déterminé le

taux d'azote total (sur base sèche) par la méthode de Kjeldahl et nous avons calculé le taux de protéines en multipliant le taux d'azote par le facteur 6,25 (Roy et coll., 1973). Nous avons mesuré la teneur en sucre par la méthode Anthrone (AOAC, 1960).

RESULTATS ET DISCUSSION

D'après les données résumées dans le Tableau 1, il est évident que le taux de survie des boutures baguées compris entre 24 et 88 % est bien supérieur à celui des boutures non baguées (contrôle), compris seulement entre 4 et 32 %. En ce qui concerne la position des boutures, nous avons observé que le taux de survie maximum de 88 % est obtenu avec les boutures baguées (R1) ; il baisse progressivement plus la distance par rapport à la bague est éloignée, pour atteindre un taux minimum de 24 % avec R6. La tendance était essentiellement la même pour les boutures non baguées. L'analyse chimique montre que le taux d'azote total est plus élevé dans les boutures baguées de R1 à R6 (0,70 à 1,10 %). Par conséquent, le taux de protéine est maximal dans les boutures baguées (4,38 à 7,42 %) par rapport aux boutures non baguées (3,67 à 5,90 %). De manière similaire, les boutures baguées sont plus riches en hydrates de carbone (0,81 à 2,23 %) que les boutures non baguées (0,39 à 0,72 %). L'analyse de variance pour les taux de survie, d'azote total, de protéines et d'hydrates de carbones est significative ($P < 0,01$).

Le taux de survie plus élevé relevé chez les boutures baguées par rapport aux boutures non baguées et les effets de la position de la bouture sur le taux de survie décrits dans cet article confirment des résultats antérieurs (Anonyme, 1978-79). Cependant l'analyse biochimique, qui révèle une baisse progressive de la teneur en azote, en protéines et en hydrates de carbones en fonction de la position de la bouture de la première à la sixième place chez les boutures baguées tout comme chez les boutures non baguées, apporte des éclaircissements sur les raisons à l'origine des observations ci-dessus. Dans l'ensemble, l'étude explique aussi que la base chimique du baguage est supérieure au non baguage chez le mûrier, étant donné que l'accumulation des taux d'azote, de protéines et de carbohydrates totaux est supérieur pour les boutures baguées, ce qui permet une meilleure réserve en apports nutritifs pendant la formation des racines et un taux de survie en fin de compte plus élevé.

SEASONAL VARIATION OF THE FOLIAR CONSTITUENTS OF THE PRIMARY FOOD PLANTS OF THE MUGA SILKWORM (*ANTHERAEA ASSAMA* WW.)

D.K. SHARMA^{1*} & D. DEVI²

1. Department of Zoology, Gauhati University, Guwahati - 781 014, India.

2. Institute of Advanced Study in Science and Technology, Khanapara, Guwahati - 781 022, India.

*The larval stage of *Antheraea assama* Ww. being reared outdoors on two primary host plants, i.e., 'Som' (*Machilus bombycina* King) and 'Soalu' (*Litsaea polyantha* Juss), faces a wide range of environmental fluctuations, including the nutrient constituents. Hence the seasonal variations of foliar constituents like moisture percentage, soluble protein and certain element profiles of these two plants were investigated. The highest quantity of moisture percentage was recorded during late spring in both Som and Soalu leaves and the moisture percentage was moderately retained during the autumn season. The moisture percentage was higher in Soalu than in Som leaves for all seasons. The soluble protein was higher in the Som leaves in the autumn season, while the Soalu leaves retained higher quantity of protein during the late spring. Significant differences in Mg, K, Zn, Mn and Se were recorded in the Soalu leaves and Fe, Zn, Mn and Se were found to differ significantly in Som during the different seasons of the year. The results suggest an impact of seasonal variation on the nutritive value of leaves. The leaves of the Som plant appeared ideal during autumn while Soalu leaves become suitable in the late spring for rearing the muga silkworm.*

Keywords: Seasonal variation, primary food plants, foliar constituents, *Antheraea assama*.

INTRODUCTION

The muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., is a polyphagous insect and thrives on various endemic plants mostly of the family Lauraceae. The most common laurels 'Som' (*Machilus bombycina* King) and 'Soalu' (*Litsaea polyantha* Juss) are used as primary host plants (Choudhury, 1981; Borah *et al.*, 1988).

The impact of seasonal fluctuation on the nutritional value as well as the chemical composition of the insect food plant leaves has already been reported (Hering and Taguchi, 1951; Kozhanchilier, 1950). The nutritive value of host plants and their seasonal variability are closely related to that of the silkworm (Yokoyama, 1963). Many of the tasar fauna stop feeding on the English oak after mid-June due to the gradual and steady deposition of tannin (Fenny, 1968).

Water is an indispensable element and takes charge for transportation of nutrients in the body of the host plants and insects. The influence of environment on the variability of the water retention capacity of mulberry leaves in different seasons was observed (Pathak and Vyas, 1988). Paul *et al.* (1992) have observed an absolute consumption of mulberry leaves containing a higher moisture content. The quality of leaves depends upon many factors like season, variety, irrigation, moisture, nutrient, etc. (Yoshida *et al.*, 1960; Kasiviswanathan *et al.*, 1979) which in turn affect the quality and quantity of silk (Petkov and Dona 1979).

* To whom correspondence should be addressed.

Protein is also one of the most important constituents of the leaves of host plants and silkworms, and is variable according to the environmental conditions (Nakajima, 1975). Micronutrients are the most essential part of leaves (Ito, 1978) and their role in silk production has already been established (Horie *et al.*, 1967). However, no information is available on these essential parameters in regard to the host plant of this natural golden silk producer, although certain works are confined to only one or two rearing seasons. Therefore, it has been attempted to evaluate the impact of seasonal variations on the moisture content, soluble protein and certain elements of the muga host plant leaves of Som (*Machilus bombycina* King) and Soalu (*Litsaea polyantha* Juss).

MATERIALS AND METHODS

Fresh leaves of all ages and sizes from the host plants, reared on the premises of the Zoology Department, Gauhati University, were collected separately in late spring (May-June), summer (August-September), autumn (October-November) and winter (December-February), corresponding to the insect's voltinism. The leaves were properly cleared, steamed for one minute, dried under a fan to remove surface water and used for different estimations.

Moisture content:

The moisture content was determined by the method of AOAC (1970). Briefly, the leaf samples (10 g) were weighed accurately in aluminium boxes, dried at $100 \pm 2^\circ\text{C}$ for 16 hr, cooled in a desiccator and reweighed. The difference of weight (%) was considered as the moisture content on dry weight.

Estimation of proteins:

The total water soluble proteins of all leaves were determined by the methods of Lowry *et al.* (1951) from a 5% homogenate of fresh leaves of both the host plants.

Estimation of elements:

Elements were estimated by the method of Kahnke (1966). In short, 1 g of ground dried leaf sample was kept in 10 ml conc. H_2SO_4 overnight, heated and cooled down; 2-4 ml of 70% HClO_4 was added and allowed to evaporate to a small volume and diluted to 50 ml by distilled water. The elements were detected in a Perkin Elmer 3280 Atomic Absorption Spectrophotometer.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean moisture content was found to be higher in Soalu ($80.62 \pm 0.8\%$) than in Som ($74.19 \pm 0.89\%$). The leaves of the spring season retained the highest quantity of moisture, followed by summer, autumn and winter in both tested food plants ($P < 0.05$). Fig. 1 shows that the moisture values were low in the winter season, while they were high during the spring season. The reduction of moisture content of leaves from spring to winter may be due to the utilisation of moisture to build up carbohydrates and other constituents of leaves, thereby increasing dry matters.

Paul *et al.* (1992) observed that the fifth instar larvae of *Bombyx mori* reared on mulberry leaves containing 76.62% moisture exhibited absolute consumption and the growth rate/day of larvae increased with the increasing percentage of leaf moisture. The percentage of water in mulberry leaves varies according to the age (Hiratsuka, 1917) and season (Pathak, 1988). Dietary water affects the nutritional efficiency of insects since a higher water content affects both edibility and assimilability of leaves in the silkworm (Parpiev, 1968), while a low water content affects energy expenditure, nutritional efficiency and the growth of herbivorous insects (Vant Hof and Martin, 1989).

However, higher moisture in fact has the greatest influence on the germination of spores of leaf spot-, leaf rust- and leaf blight-causing pathogens and on the penetration of the host by the germinating spores (Philip, 1992). Hence the presence of moderately rich moisture in the leaves during autumn appears as ideal for the muga silkworm.

The soluble protein content as a whole was higher in the leaves of Som during the autumn season ($12.94 \pm 0.35\%$) while in Soalu it was higher during the spring season ($11.12 \pm 0.13\%$) Fig. 2 shows

that proteins are present in the order of autumn > spring > summer > winter in the case of Som and in the order spring > summer > autumn > winter in the case of Soalu leaves.

Fig. 1: Moisture content (%) of the leaves of primary host plants Som and Soalu in different seasons of a year.

Fig. 1 : Teneur en eau (%) des feuilles des plantes hôtes primaires Som et Soalu sur différentes saisons de l'année.

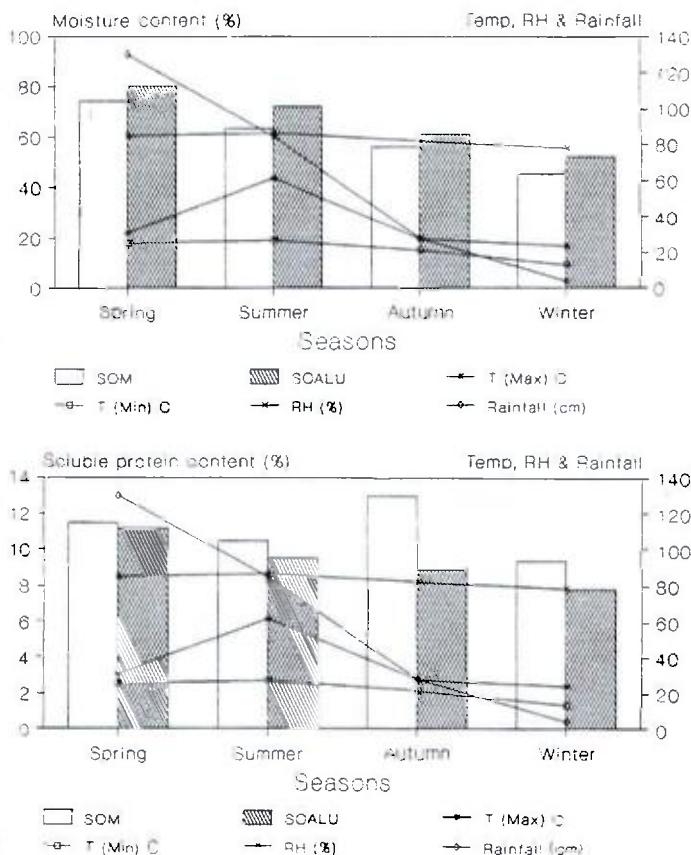
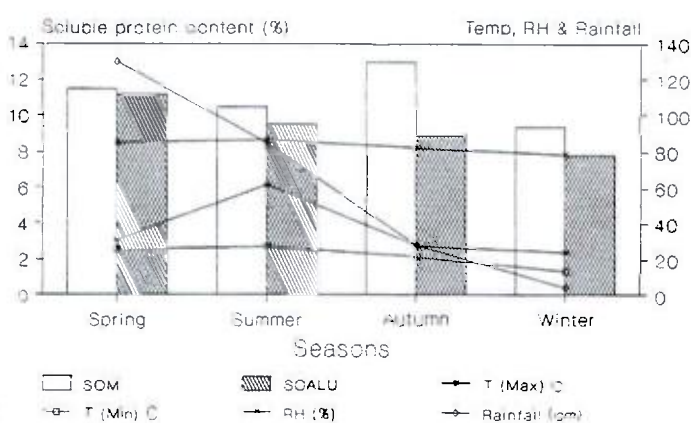


Fig. 2: Soluble protein content (%) of the leaves of primary host plants Som and Soalu in different seasons of a year.

Fig. 2 : Teneur en protéines solubles (%) des feuilles des plantes hôtes primaires Som et Soalu sur différentes saisons de l'année.



The soluble protein of leaves of both the tested plants was found to be variable with regard to the seasonal fluctuations. Probably, the moisture quantity of the leaves maintained a degree of relationship in the retention of soluble protein in different seasons. It has been reported that the protein and the non-protein nitrogenous matter in mulberry leaves varies to an extent according to the environmental conditions (Anonymous, 1980).

Irrespective of the season, the total soluble protein of both the tested plants was found to differ significantly ($P < 0.05$). This variation of the protein content may be attributed to their genetical differences which govern the protein synthesis in various ways. The findings of Bharali (1974) and more recently of Baruah *et al.* (1992) are in agreement with the present study. According to a report (Anonymous, 1962), the protein content of Som and Soalu leaves from different places was recorded to vary between 9.03% to 12.24% and 10.98% to 11.38% respectively, which confirms the present data.

The inorganic part of the food is constituted by different minerals and its balance in the diet plays an important role in successful development of silk-producing insects (Subburathinam and Krishnan, 1992).

A considerably higher level of Mg was detected in the leaves of Som (716.33-796.26 $\mu\text{g/g}$) and Soalu (705.6-784.20 $\mu\text{g/g}$) during the four different seasons (Tables I and II). The importance of Mg in silkworm diet was previously stressed by Shyamala and Bhat (1968) who commented that efficient quantity of Mg present in the diet and its utilisation by larvae resulted in better cocoon weight and cocoon yield. The higher level of Mg in the autumn season was quite indicative of the above phenomenon.

The K level was highest in the autumn season followed by winter, summer and spring in both the Som and the Soalu leaves (Tables I and II). In regard of varieties, Soalu had a higher level of K over Som. The increasing trend of K from spring to autumn may be due to the decreased trend of the water content of leaves. The higher level of K in leaves may be one of the reasons of enhancement of carbohydrate content in the leaves in the autumn season relative to the spring season (Kalita, 1992). Protein metabolism in plants also requires the presence of K and the formation of carbohydrate is found to be dependent on the presence of this element (Mallett *et al.*, 1960) although K is not definitely known to be a constituent of any organic compound essential to plant life.

Table I. Average (5 observations) $\pm$ standard deviation of certain element profiles present in the leaves of Som (*Machilus bombycina* King) during different seasons, expressed in $\mu\text{g/g}$ of wet leaves.

*Tableau I. Moyenne (5 observations) $\pm$ écart type des profils de certains éléments présents dans les feuilles de Som (*Machilus bombycina* King) au cours de différentes saisons (en $\mu\text{g/g}$ de feuille fraîche).*

Element	Late spring (May-June)	Summer (June-July)	Autumn (Oct.-Nov.)	Winter (Dec.-Feb.)
<i>Elément</i>	<i>Fin printemps (mai-juin)</i>	<i>Été (juin-juil.)</i>	<i>Automne (oct.-nov.)</i>	<i>Hiver (déc.-fév.)</i>
Ca	2439.40 $\pm$ 341.03	2231.24 $\pm$ 128.30	2043.72 $\pm$ 213.24	2013.43 $\pm$ 192.39
Mg	1705 $\pm$ 59.24	1725.45 $\pm$ 48.24	1748.25 $\pm$ 68.25	1693.20 $\pm$ 84.25
K	2016.60 $\pm$ 194.40	2267.72 $\pm$ 242.04	2843.41 $\pm$ 123.3	2403.91 $\pm$ 184.45
Fe	45.25 $\pm$ 9.23	47.42 ^{ab} $\pm$ 15.24	56.42 ^{ac} $\pm$ 15.04	50.23 ^{bc} $\pm$ 9.21
Zn	36.66 $\pm$ 12.45	46.45 ^d $\pm$ 13.25	32.63 ^{dc} $\pm$ 8.45	28.55 ^c $\pm$ 9.21
Cu	2.33 $\pm$ 0.45	2.12 $\pm$ 0.92	1.93 $\pm$ 0.55	1.95 $\pm$ 0.72
Mn	39.00 ⁱ $\pm$ 8.45	48.32 ^j $\pm$ 9.43	52.05 ^g $\pm$ 4.29	85.62 ^g $\pm$ 11.45
Cd	0.17 $\pm$ 0.025	0.15 $\pm$ 0.13	0.17 $\pm$ 0.002	0.13 $\pm$ 0.09
Co	3.66 $\pm$ 1.25	3.45 $\pm$ 1.05	3.29 $\pm$ 1.25	4.09 $\pm$ 1.03
Pb	1.09 $\pm$ 0.25	2.33 $\pm$ 0.42	1.23 $\pm$ 0.25	1.04 $\pm$ 0.45
Se	25.32 ^g $\pm$ 5.52	23.45 ^h $\pm$ 8.24	29.74 ^{gh} $\pm$ 9.32	19.43 $\pm$ 4.25
Ni	1.33 $\pm$ 0.32	1.25 $\pm$ 0.49	1.17 $\pm$ 0.45	2.45 $\pm$ 0.29
Cr	ND	ND	0.209 $\pm$ 0.024	0.132 $\pm$ 0.003

ND: Not detected / Non détecté.

Values followed by the same superscript(s) in the row(s) differ significantly from each other (confidence level 95%).

Les valeurs suivies d'une ou plusieurs lettre(s) identiques dans la même rangée diffèrent de manière significative (seuil de confiance $\pm$ 95 %).

A higher level of Fe was observed in both food plants during the autumn season followed by winter, summer and spring (Tables I and II). Fe is essential for the formation and functioning of chlorophyll (Sinha *et al.*, 1992). The higher level of Fe during the autumn season is suggestive of the low pH of the soil. They also aptly suggested that most of the Fe deficiencies are related to high soil pH. Also, increasing the amount of organic matter of sulphur in the soil makes native soil Fe more available to plants. The host plant of the silkworm requires essentially K, P, Mg and Zn for its growth and survival. It is interesting to note that there are similarities in these requirements of each element among insect species and that of the leaves. The leaves contain adequate amounts of mineral to maintain good health (Horie *et al.*, 1967) and minerals like P and Ca are essential for gaining body weight by the larvae (Pathak, 1988).

Table II. Average (5 observations) $\pm$ standard deviation of certain element profiles present in the leaves of Soalu (*Litsaea polyantha*) during four different seasons, expressed in $\mu\text{g/g}$ of wet leaves.

Tableau II. Moyenne (5 observations) $\pm$ écart type des profils de certains éléments présents dans les feuilles de Soalu (Litsaea polyantha) au cours de quatre saisons différentes (en $\mu\text{g/g}$ de feuille fraîche).

Element	Late spring (May-June)	Summer (June-July)	Autumn (Oct.-Nov.)	Winter (Dec.-Feb.)
Élément	Fin printemps (mai-juin)	Été (juin-juil.)	Automne (oct.-nov.)	Hiver (déc.-fév.)
Ca	2326.00 $\pm$ 214.24	2209.30 $\pm$ 194.43	2148.72 $\pm$ 182.54	2132.19 $\pm$ 175.45
Mg	1719.33 ^a $\pm$ 82.45	1735.72 ^{ab} $\pm$ 159.45	1755.35 ^b $\pm$ 72.39	1707.42 $\pm$ 201.45
K	1135.33 $\pm$ 142.24	1424.52 ^c $\pm$ 160.34	1726.40 ^c $\pm$ 152.05	1612.39 $\pm$ 169.43
Fe	41.66 $\pm$ 9.63	44.39 $\pm$ 4.28	48.42 ^d $\pm$ 7.32	45.92 ^d $\pm$ 4.24
Zn	13.66 ^c $\pm$ 8.25	16.45 $\pm$ 8.49	12.93 $\pm$ 4.45	11.85 ^c $\pm$ 5.45
Cu	5.66 $\pm$ 1.43	4.93 $\pm$ 1.39	4.43 $\pm$ 2.31	3.24 $\pm$ 1.04
Mn	22.64 $\pm$ 9.42	38.24 ^f $\pm$ 2.80	25.29 $\pm$ 9.34	52.56 ^f $\pm$ 4.72
Cd	1.33 $\pm$ 0.09	1.25 $\pm$ 0.30	1.42 $\pm$ 0.56	1.25 $\pm$ 0.28
Co	4.03 $\pm$ 0.25	4.10 $\pm$ 0.46	4.53 $\pm$ 0.26	4.08 $\pm$ 1.25
Pb	1.33 $\pm$ 0.25	1.45 $\pm$ 0.43	1.32 $\pm$ 0.23	1.45 $\pm$ 0.25
Se	23.34 $\pm$ 4.45	17.45 $\pm$ 7.75	28.73 ^g $\pm$ 4.28	17.28 ^g $\pm$ 3.25
Ni	2.33 $\pm$ 0.78	2.14 $\pm$ 0.94	2.01 $\pm$ 0.64	1.94 $\pm$ 0.24
Cr	ND	ND	ND	ND

ND: Not detected / Non détecté.

Values followed by the same superscript(s) in the row(s) differ significantly from each other (confidence level 95%).

Les valeurs suivies d'une ou plusieurs lettre(s) identiques dans la même rangée diffèrent de manière significative (seuil de confiance : 95 %).

The Ca level was found to decrease from the spring to the winter season in both tested leaves (Tables I and II). A decrease in the Ca content of leaves with further increasing growth periods

indicates that the availability of Ca in the soil may have decreased, causing less uptake of Ca by the plant. An increased growth period may also affect the Ca absorption and translocation within the plant system. Subburathinam and Krishnan (1992) reported that enrichment of mulberry leaves with calcium chloride (at 1 % level) can increase the cocoon weight (11.42%), shell weight (16.75%), cocoon/shell ratio (6.7%) and silk protein (fibroin, 4.85% and sericin 9.32%). Bharali (1974) reported 0.93% to 1.21 Ca level in different types of Som leaves in conformity with the present findings. The highest level of Zn was detected in the leaves of the summer season in both food plants. However, the Som leaves contained a higher amount of Zn than the Soalu leaves in all seasons. Among the micronutrients, the deficiency of Zn is of greater importance, followed by Fe. It enhances heat and frost resistance of plants by stabilising to a certain extent their respiration during sharp temperature variations (Sinha *et al.*, 1992). Higher amount of Zn level during summer indicates this phenomenon. Zn is also related with the phosphorus uptake in plants. However, in the absence of P level their relationship or interaction could not be ascertained during the present study.

Copper (Cu) performs certain functions in the nitrogen metabolism, being present in nitrate reductase, hyponitrite reductase and reductase in nitrogen oxide. As a result of the effect of Cu on the activity of certain systems, this element promotes fixation of atmospheric nitrogen and uptake of nitrogen from the soil and fertilisers (Sinha *et al.*, 1992). The higher level of Cu recorded during the spring and summer seasons in both the plant leaves suggests the efficiency of higher nitrogen fixation, resulting in good and rapid growth of the plants. Cu also enhances the stability of the chlorophyll protein complex, minimises the degradation of chlorophyll and is favourable in the greening of all plants.

A higher level of Mn was found in the winter season in the leaves of both Som ($52.26 \pm 4.72 \mu\text{g/g}$) and Soalu ($85.62 \pm 11.45 \mu\text{g/g}$). This level of Mn is quite indicative of its activity to enhance the water-holding capacity of tissues, to reduce transpiration and affects the fruit-bearing capacity, as informed by Sinha *et al.* (1992).

The presence of Se in good quantity in both categories of leaves of Som and Soalu was obtained in the autumn season (Tables I and II). Trelease and Trelease (1938) conducted a number of experiments and stated that Se is an essential growth stimulant of *Astragalus recemosas*. Bowen (1964) observed the presence of Se in leaves belonging to the families Compositae, Cruciferae and Papilionaceae.

The presence of Co, Cd and Ni in the tested leaves whether contaminated or essential trace element is not known. Similarly, the detection of Cr only in the autumn and winter seasons in the Soalu leaves could not be explained.

The role of elements in the maintenance of healthy growth of the plants is essentially an accepted phenomenon. But with the present study, it is not possible to elucidate the quantitative role of different elements in the maintenance of healthy growth of the host plant leaves. This needs, however, further research.

It can be concluded that the impact of seasonal fluctuations on the moisture, protein level and on certain elements like Mg, K, Fe, Zn, Cu, Mn and Se was evident in this experiment. The variation of these parameters between these two food plants is not readily available and probably lies in the genetic potential of each species. However, the comparative studies on the moisture, protein and element level of the leaves of Som, *Machilus bombycina*, gives a clear picture of their superiority over the leaves of Soalu, *Litsea polyantha*, and the autumn season appears as the ideal period.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support provided by the State Sericulture Department, Government of Assam, is thankfully acknowledged. Thanks are also due to RSIC Shillong, India, for atomic absorption spectrophotometric analysis.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1962) Protein content of Som and Soalu leaves. Report, Regional Sericultural Research Station, Titabar, Assam.

- ANONYMOUS (1980) A report on the survey of sericulture and handloom in Assam. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, Guwahati.
- AOAC (1975) Official Methods of Association of Agricultural Chemists. W. Hartwitz (ed.), 12th edition. Washington.
- BARUAH A., BHATTACHARYA P.R., BARUAH A.K.S., BORDOLOI D.N. (1992) Oil field pollutants and their effect on muga sericulture. I: Nutritional quality of muga silkworm food plants, *Machilus bombycina*. J. Assam Sci. Soc., 34, 59-66.
- BHARALI N. (1974) Some studies on the ecology of muga silkworm. Proc. International Seminar on Non-Mulberry Silks. Central Silk Board, Bombay, 254-256.
- BORAH A., PHUKAN S.N., SAMSON M.V. (1988) Variation in cocoon characters of *Antheraea assama* Ww. during different seasons. Sericologia, 28, 215-218.
- CHOUDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam.
- FENNY P. (1968) Seasonal changes in oak leaf tannins and feeding by winter moth caterpillars. Ecology, 51, 565-582.
- HERING E., TAGUCHI H. (1951) Seasonal changes in the contents of starch grain in querce trees for the food of wild silkworms, *A. yamamai* and *A. pernyi*. J. Sericult. Sci. Japan, 6, 413-419.
- HIRATSUKA E. (1917) Research on the nutrition of the silkworm. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 2, 253-412.
- HORIE Y., WATANABE K., ITO T. (1967) Nutrition of the silkworm, *B. mori*. XVIII: Quantitative requirements for potassium, phosphorus, magnesium and zinc. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 22, 181-193.
- ITO T. (1978) Silkworm nutrition. pp. 121-157. In The Silkworm: An Important Laboratory Tool. Y. Tazima (ed.), Kodansha Ltd., Tokyo.
- KAHNKE M.J. (1966) Atomic absorption spectrophotometer applied to the determination of zinc in formalinized human tissue. At Absorp. Newsed., 587-610.
- KALITA M.K. (1992) Comparative study of the nutritional composition and its seasonal variation of different types of host plant leaves of muga silkworm, *Antheraea assama* Ww. M.Sc. Thesis, Assam Agricultural University, Assam.
- KOZHANCHILIER I.V. (1950) The importance of seasonal changes in the leaves of oak in the nutrition and growth of *A. pernyi* Kohl. Akad. Skh. Nauk. Lenia, Moscow, B I, 31-36.
- LOWRY O.H., ROSENBERG N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- MALLETE M.F., ALTHOUS P.M., OLAGETTE C.O. (1960) Biochemistry of Plants and Animals. Wiley Eastern Pvt. Ltd., New Delhi.
- NAKAJIMA S. (1975) In Textbook of Tropical Sericulture. p. 159, Japan Overseas Cooperation Volunteers.
- PATHAK A.K. (1988) Studies on nutrition, growth and cocoon characters of eri silkworm fed on different varieties of leaves. M.Sc. Thesis, Assam Agricultural University, pp. 18-65.
- PARPIEV B.A. (1968) Water metabolism in silkworm fed with a different strain changing diet. Shelk, 39, 15-17.
- PAUL D.C., SUBBA RAO G., DEB D.C. (1992) Impact of dietary moisture on nutritional indices and growth of *Bombyx mori* and concomitant larval duration. J. Insect Physiol., 38, 229-235.
- PETKOV M., DONA M. (1979) The composition and digestibility of nutrients in leaves of different mulberry varieties of silkworm trials. Zn. Volnov'd. Naudi, 16, 113-117.
- PHILIP T. (1992) Effect of environmental factors on mulberry diseases. Indian Silk, 31, 10-12.
- SHYAMALA M.R., BHAT J.V. (1968) Nutritional and Physiological Studies. Final Technical Report, Indian Institute, Bangalore.
- SUBBURATHINAM K.M., KRISHNAN M. (1992) The vital role of minerals in the nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian Silk, 31, 48-50.
- SINHA A.K., SUBBASWAMY M.R., REDDY M.M., DATTA R.K. (1992) Micronutrients and their role in mulberry nutrition. Indian Silk, 31, 43-45.
- TRELEASE S.F., TRELEASE H.M. (1938) Selenium as a stimulating and possibly essential element for certain plants. Science, 87, 70-71.

- VANT HOF H.M., MARTIN M.M. (1989) The effect of diet, water content on energy expenditure by third instar *Manduca sexta* larvae (Lepidoptera: Sphingidae). *J. Insect Physiol.*, 35, 433-436.
- YOKOYAMA T. (1963) Sericulture. *Ann. Rev. Ent.*, 9, 287-306.
- YOSHIDA T., MATSUOKA M., KIMURA K. (1960) On the rearing of silkworm larvae with an artificial diet containing direct mulberry leaf powder as its basic material. *Sanchi Shikenjo Hokoku*, 15, 543-486.

VARIATIONS SAISONNIERES DES CONSTITUANTS FOLIAIRES DES PLANTES NOURRICIERES DU VER A SOIE MUGA (*ANTHERAEA ASSAMA* WW.)

D.K. SHARMA^{1*} & D. DEVI²

1. Department of Zoology, Gauhati University, Guwahati - 781 014, Inde.

2. Institute of Advanced Study in Science and Technology, Khanapara, Guwahati - 781 022, Inde.

*Les larves d'*Antheraea assama* Ww. sont élevées à l'extérieur sur deux plantes hôtes primaires c'est-à-dire 'Som' (*Machilus bombycina* King) et 'Soalu' (*Litsaea polyantha* Juss) et de ce fait font face à de nombreuses fluctuations environnementales, y compris celles des substances nutritives. Par conséquent, nous avons étudié les variations saisonnières des constituants des feuilles tels que le taux d'humidité, les protéines solubles et certains composants de ces deux plantes. Nous enregistrons un taux d'humidité maximal à la fin du printemps à la fois pour les feuilles de Som et de Soalu et observons que le taux d'humidité se maintient de manière modérée à l'automne. Le taux d'humidité des feuilles de Soalu est plus élevé que celui des feuilles de Som en toutes saisons. Les feuilles de Som contiennent plus de protéines solubles en automne tandis que les feuilles de Soalu comportent plus de protéines à la fin du printemps. Nous enregistrons des différences significatives en Mg, K, Zn, Mn et Se dans les feuilles de Soalu et de Fe, Zn, Mn et Se dans les feuilles de Som aux différentes saisons de l'année. Les résultats suggèrent que les variations saisonnières ont un impact sur la valeur nutritive des feuilles. Les feuilles de Som apparaissent idéales pendant l'automne tandis que les feuilles de Soalu deviennent adaptées à l'élevage de ver à soie muga à la fin du printemps.*

INTRODUCTION

Le ver à soie muga, *Antheraea assama* Ww., est un insecte polyphage qui se développe sur des plantes endémiques variées principalement de la famille des Lauraceae. Les lauriers les plus ordinaires 'Som' (*Machilus bombycina* King) et 'Soalu' (*Litsaea polyantha* Juss) sont utilisés comme plantes hôtes primaires (Choudhury, 1981; Borah et coll., 1988).

L'impact des fluctuations saisonnières sur la valeur nutritive et la composition chimique des feuilles des plantes nourricières de l'insecte ont déjà été observés (Hering et Taguchi, 1951; Kozhanchilier, 1950). La valeur nutritive des plantes hôtes et leur variabilité saisonnière sont étroitement liées à celles du ver à soie (Yokoyama, 1963). Une grande partie de la faune évoluant autour du tasar arrête de se nourrir sur le chêne anglais après la mi-juin à cause du dépôt progressif et régulier de tanin (Fenny, 1968).

L'eau est un élément indispensable qui transporte des éléments nutritifs dans les plantes hôtes et dans le corps des insectes. L'influence de l'environnement sur la capacité de rétention d'eau des feuilles de mûrier aux différentes saisons a été observée (Pathak et Vyas, 1988). Paul et coll., (1992) ont constaté une consommation absolue des feuilles de mûrier contenant une teneur en humidité plus élevée. La qualité des feuilles dépend de nombreux facteurs tels que la saison, la variété, l'irrigation, l'humidité, les substances nutritives, etc. (Yoshida et coll., 1960; Kasiviswanathan et coll., 1979), lesquels ont en retour une incidence sur la qualité et la quantité de soie produite (Petkov and Dona, 1979).

* Auteur auquel doit être adressée la correspondance.

Les protéines constituent un des constituants les plus importants des feuilles des plantes hôtes et des vers à soie, et elles varient en fonction des conditions du milieu (Nakajima, 1975). Les micro-nutriments sont la partie la plus essentielle des feuilles (Ito, 1978) et on a déjà établi leur rôle dans la production de soie (Horie et coll., 1967). Cependant, on ne dispose d'aucune information sur ces paramètres essentiels chez la plante hôte de ce producteur de soie dorée, bien que certains travaux aient étudié une ou deux saisons d'élevage. Par conséquent, nous avons essayé d'évaluer l'impact des variations saisonnières sur le taux d'humidité, sur les protéines solubles et sur certains constituants des feuilles des plantes hôtes du muga, Som (*Machilus bombycina* King) et Soalu (*Litsaea polyantha* Juss).

MATERIELS ET METHODES

Nous avons ramassé séparément des feuilles fraîches de tous âges et de toutes tailles provenant de plantes hôtes, plantées au Département de Zoologie, à l'Université de Gauhati, à la fin du printemps (mai-juin), en été (août-septembre), en automne (octobre-novembre) et en hiver (décembre-février), périodes qui correspondent au voltinisme de l'insecte. Ces feuilles ont été correctement nettoyées, passées à la vapeur pendant une minute, et séchées sous un ventilateur afin d'en retirer l'humidité de surface et de les utiliser pour différentes observations.

Taux d'humidité :

Le taux d'humidité a été déterminé selon la méthode d'AOAC (1970). En résumé, les feuilles prélevées (10 g) sont pesées avec précision dans des boîtes en aluminium, séchées à $100 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 16 heures, puis refroidies dans un dessiccateur et repesées. On considère que la différence de poids (%) représente le taux d'humidité sur poids sec.

Estimation des protéines :

Nous déterminons la totalité des protéines solubles à l'eau par les méthodes de Lowry et coll. (1951) à partir d'un homogénat de 5 % de feuilles fraîches provenant des deux plantes hôtes.

Estimation des constituants :

Nous procédons à l'estimation des constituants par la méthode de Kahnke (1966). En résumé, nous conservons 1 g d'échantillons de feuilles séchées dans 10 ml de H_2SO_4 concentré pendant la nuit, les chauffons puis les refroidissons ; nous ajoutons 2-4ml de HClO_4 à 70 %, que nous faisons évaporer jusqu'à un petit volume et diluons à 50 ml avec de l'eau distillée. Nous détectons les constituants dans un Spectrophotomètre à Absorption Atomique Perkin Elmer 3280.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous constatons que le taux d'humidité moyen est plus élevé pour les feuilles de Soalu ($80,62 \pm 0,8\%$) que pour les feuilles de Som ($74,19 \pm 0,89\%$). Les feuilles prélevées au printemps retiennent plus d'humidité, suivies par les feuilles prélevées en été, en automne, puis en hiver pour les deux plantes hôtes testées ($P < 0,05$). La figure 1 montre que les valeurs d'humidité sont basses en hiver et élevées au printemps. La baisse du taux d'humidité des feuilles du printemps à l'hiver, est peut-être due à l'utilisation de l'humidité pour la production d'hydrates de carbone et d'autres constituants de la feuille, ce qui augmente de ce fait la matière sèche.

Paul et coll. (1992) ont observé que le cinquième stade larvaire de *Bombyx mori* élevé sur des feuilles de mûrier contenant 76,62 % d'humidité consomme au maximum et que le taux de croissance journalier des larves augmente plus le taux d'humidité de la feuille est élevé. La teneur en eau des feuilles de mûrier varie en fonction de l'âge (Hiratsuka, 1917) et de la saison (Pathak, 1988). L'eau absorbée a des effets sur l'efficacité de la nutrition chez les insectes puisqu'une teneur en eau plus élevée a des effets sur la comestibilité et sur l'assimilation des feuilles par le ver à soie (Parnpiev, 1968), tandis qu'une faible teneur en eau a des effets sur les dépenses d'énergie, et sur l'efficacité de la nutrition et de la croissance des insectes herbivores (Vant Hof et Martin, 1989).

Cependant, une humidité plus élevée a en fait la plus grande influence sur la germination des spores de taches, de rouille et de cloques de la feuille, responsables de la présence de germes pathogènes, et sur la pénétration de l'hôte par les spores en germination (Philip, 1992). Par conséquent, la présence d'une humidité modérée dans les feuilles pendant l'automne semble idéale pour le ver à soie muga.

La teneur en protéines solubles dans l'ensemble est plus élevée pour les feuilles de Som à l'automne ($12,94 \pm 0,35 \%$) et plus élevée au printemps pour les feuilles de Soalu ($11,12 \pm 0,13 \%$). La figure 2 montre que les protéines sont présentes dans l'ordre automne > printemps > été > hiver dans le cas de Som et dans l'ordre printemps > été > automne > hiver pour les feuilles de Soalu. Nous constatons que les protéines solubles des feuilles des deux plantes testées varient en fonction des fluctuations saisonnières. Il est probable que le taux d'humidité des feuilles ait une certaine relation avec la rétention des protéines solubles aux différentes saisons. Il a été constaté que la matière azotée protidique et non protidique des feuilles de mûrier varie dans un certain degré en fonction des conditions du milieu (Anonyme, 1980).

Nous constatons que la quantité totale de protéines solubles des deux plantes testées varie de manière significative ($P < 0,05$) indépendamment des saisons. Il se peut que cette variation du taux protidique soit due à leurs différences génétiques qui commandent la synthèse protidique de manière différente. Les découvertes de Bharali (1974) et plus récemment de Baruah et coll. (1992) confirment cette étude. Il a été observé dans une autre étude (Anonyme, 1962), que le taux de protéines des feuilles de Som et de Soalu selon les lieux, varie respectivement entre 9,03 % et 12,24 % et 10,98 % et 11,38 %, ce qui confirme les données présentes.

La partie non organique de la nourriture se compose de différents minéraux et son équilibre dans le régime alimentaire joue un rôle important pour le bon développement des insectes producteurs de soie (Subburathinam et Krishnan, 1992).

Nous enregistrons un niveau considérablement élevé de Mg pendant les quatre saisons dans les feuilles de Som (716,33 - 796,26 $\mu\text{g/g}$) et de Soalu (705,6 - 784,20 $\mu\text{g/g}$) (Tableaux I et II). Shyamala et Bhat (1968) ont déjà souligné l'importance du Mg dans le régime alimentaire du ver à soie, et ont observé qu'une quantité efficace de Mg présente dans le régime alimentaire et utilisée par les larves permet l'amélioration du poids du cocon et de son rendement. Le niveau plus élevé de Mg à l'automne est un indicateur de ce phénomène.

Le niveau de K est plus élevé à l'automne, puis en hiver, en été et au printemps pour les feuilles de Som et de Soalu (Tableaux I et II). Pour ce qui est des variétés, Soalu présente un niveau de K plus élevé que Som. Le niveau croissant de K du printemps à l'automne tient peut-être au niveau décroissant du niveau d'eau des feuilles. L'accroissement du taux d'hydrates de carbone dans les feuilles en automne par rapport à l'hiver est peut-être dû au niveau élevé de K des feuilles (Kalita, 1992). Le métabolisme des protéines des plantes nécessite la présence de K, la formation des hydrates de carbone dépend aussi de la présence de cet élément (Mallette et coll., 1960) bien que le K ne soit pas précisément connu comme étant un constituant de composé organique essentiel à la vie des plantes.

Nous enregistrons un niveau de Fe plus élevé chez les deux plantes nourricières en automne, puis en hiver, en été et au printemps (Tableaux I et II). Le Fe est essentiel à la formation et au fonctionnement de la chlorophylle (Sinha et coll., 1992). Le taux plus élevé de Fe à l'automne laisse indiquer un taux de pH plus faible du sol. Ils suggèrent avec justesse que la plupart des insuffisances en Fe ont un rapport avec un taux de pH élevé du sol. On peut ainsi rendre un sol d'origine plus accueillant pour les plantes en augmentant la quantité de matière organique en souffre présente dans le sol. La plante hôte du ver à soie a essentiellement besoin de K, P, Mg et Zn pour sa croissance et sa survie. Il est intéressant de noter qu'il y a des similarités entre les besoins parmi les espèces d'insectes pour chacun de ces éléments et entre ceux des feuilles. Les feuilles contiennent des quantités adéquates de minéraux pour leur bon développement (Horie et coll., 1967) et des minéraux comme P et Ca sont essentiels pour que les larves gagnent du poids (Pathak, 1988).

Nous observons que le taux de Ca baisse du printemps à l'hiver pour les deux types de feuilles testées (Tableaux I et II). Une baisse du taux de Ca des feuilles avec des périodes ultérieures de croissance plus élevées peut indiquer que la présence de Ca dans le sol a baissé, ce qui entraîne une plus faible absorption de Ca par la plante. Une période de croissance plus forte peut aussi affecter l'absorption et le déplacement de Ca dans le système de la plante. Subburathinam et Krishnan (1992)

ont constaté que l'enrichissement des feuilles de mûrier avec du chlorure de calcium (à un seuil de 1 %) peut augmenter le poids du cocon (11,42 %), le poids de la coque (16,75 %), le rapport cocon/coque (6,7 %) et les protéines de la soie (fibroïne 4,85 % et sérécine 9,32 %). Bharali (1974) a observé un niveau de Ca de 0,93 % à 1,21 dans différents types de feuilles Som, ce qui confirme les travaux présents. Le taux maximum de Zn des feuilles est relevé en été chez les deux plantes nourricières. Cependant, les feuilles de Som contiennent plus de Zn que les feuilles de Soalu en toutes saisons. Parmi les éléments micro-nutritifs, l'insuffisance en Zn est la plus sérieuse, suivie par celle en Fe. Il augmente la résistance à la chaleur et au gel des plantes en stabilisant leur respiration à un certain point, pendant les variations de températures élevées (Sinha et coll., 1992). Le taux de Zn plus élevé en été est un indicateur de ce phénomène. Le Zn a aussi un rapport avec la consommation en phosphore des plantes. Cependant, en l'absence du niveau de P, nous n'avons pas pu vérifier leur relation ou leur interaction dans cette étude.

Le cuivre (Cu) remplit certaines fonctions dans le métabolisme de l'azote, il est en effet présent dans la nitrate réductase, dans l'hyponitrite réductase et dans la réductase de l'oxyde d'azote. Ce constituant favorise la fixation de l'azote atmosphérique et l'absorption de l'azote du sol et des engrais grâce aux effets du Cu sur l'activité de certains systèmes (Sinha et coll., 1992). Le taux plus élevé de Cu que l'on enregistre au printemps et en été chez les feuilles des deux plantes laisse indiquer une efficacité plus élevée de fixation de l'azote, qui permet une croissance rapide et bonne des plantes. Le Cu permet aussi d'améliorer la stabilité du complexe des protéines de la chlorophylle, de minimiser la détérioration de la chlorophylle et de favoriser le verdissement des plantes.

Nous observons un taux de Mn plus élevé en hiver pour les feuilles de Som ($52,26 \pm 4,72 \mu\text{g/g}$) et de Soalu ($85,62 \pm 11,45 \mu\text{g/g}$). Ce niveau de Mn est indicateur de son rôle dans l'amélioration de la capacité de rétention d'eau des tissus, dans la baisse de transpiration et sur la capacité fructifère, ainsi que l'ont montré Sinha et coll. (1992).

Nous observons une bonne présence de Se pour les deux types de feuilles Som et Soalu en automne (Tableaux I et II). Trelease et Trelease (1938) ont mené un certain nombre d'expériences et en ont déduit que le Se est un stimulant de croissance essentiel à *Astragalus recemosas*. Bowen (1964) a observé la présence de Se dans les feuilles appartenant aux familles des Compositae, Cruciferae et Papilionaceae.

Nous enregistrons la présence de Co, Cd et Ni dans les feuilles testées, mais nous ne savons pas si elle provient d'une contamination ou si elle est un élément trace essentiel. De même, la présence de Cr seulement à l'automne et en hiver n'a pas pu être expliquée.

Le rôle des éléments dans le maintien d'une bonne croissance des plantes est un phénomène accepté. Mais dans cette étude, nous ne pouvons pas mettre à jour le rôle quantitatif des différents éléments pour le maintien d'une croissance saine des feuilles des plantes hôtes. Ceci demande des recherches supplémentaires.

Nous pouvons conclure que l'impact des fluctuations saisonnières sur le taux d'humidité, de protéines et sur certains composants tels que le Mg, le K, le Fe, le Zn, le Cu, le Mn, et le Se est évident dans ces essais. La variation de ces paramètres entre les deux plantes nourricières n'est pas facilement explicable et dépend probablement du potentiel génétique de chaque espèce. Cependant, les études comparatives sur les niveaux d'humidité, de protéines et de composants des feuilles de Som, *Machilus bombycina*, démontrent leur supériorité sur les feuilles de Soalu, *Litsaea polyantha*, et l'automne apparaît comme la saison idéale.

A STUDY ON THE PROGRESSIVE CHANGE IN CHARACTERISTICS OF THE BAVE (FILAMENT) ALONG ITS LENGTH IN MULBERRY AND TASAR COCOONS

R. CHATTOPADHYAY, S. DAS, M.L. GULRAJANI & K. SEN

Department of Textile Technology, Indian Institute of Technology, Hauz Khas,
New Delhi - 110 016, India.

*The physical properties and residual sericin content of the cocoon bave from Daba (*Antheraea mylitta*), oak tasar (*Antheraea proylei*) and bivoltine mulberry (*Bombyx mori*) varieties were evaluated in relation to its position in different layers of the cocoon. A decrease in filament size from the outer to the innermost layers was observed in all the varieties. Although the average tenacity was found to increase in bivoltine mulberry cocoons from the outer to the innermost layers, no such specific trend was observed for Daba cocoons. For oak tasar cocoons, it showed a marginal rise. A similar trend was observed for the modulus also. The breaking extension was constant for Daba cocoons, decreased for oak tasar cocoons and showed a rise followed by a fall for bivoltine mulberry cocoons from the first to the last layer. The residual sericin decreased marginally from the outer to the inner layer in the case of tasar cocoons. However, for mulberry cocoons it decreased fast initially up to the fourth layer and thereafter showed no change.*

Keywords: *Antheraea mylitta*, *Antheraea proylei*, *Bombyx mori*, layer, sericin, bave.

INTRODUCTION

Daba and oak tasar are the two popular non-mulberry tasar silks in India, which are categorised as tropical and temperate tasar depending on the region of cultivation. While Daba belongs to the species of *Antheraea mylitta* D. and is a pure race, the oak tasar silkworm is the interspecific hybridised product of *Antheraea roylei* and *Antheraea pernyi* which makes *Antheraea proylei* J. The cultivated bivoltine mulberry silkworm is a well-known species of *Bombyx mori* L. Silk, being a natural product, inherently contains some amount of variation in all its characteristics. It is not only important to know the extent of variability present in its various physical and mechanical properties but also to know whether there exists any pattern in its characteristics along its length and — since such a pattern may lead to bring a perceptible change in the appearance of the final product — if so, why? Physical properties of *Antheraea mylitta* D. (Iizuka *et al.*, 1993a), *Antheraea proylei* J. (Iizuka *et al.*, 1993b), *Antheraea yamamai* (Tsubouchi *et al.*, 1988) and *Bombyx mori* L. (Iizuka, 1993) of Japanese, Chinese and Thai local varieties were studied with respect to the thread size, position of layers, spinning period and in some cases on male and female thread of the same variety. The previous studies have highlighted this aspect in a limited manner especially of the silk of *Antheraea mylitta* D., *Antheraea proylei* J. and *Bombyx mori* L. varieties.

The aim of this investigation is to study the progressive change in the characteristics of bave along its length in Daba, oak tasar and bivoltine mulberry varieties available from three different regions of India, i.e., Bihar, Uttar Pradesh and Karnataka, respectively.

MATERIALS AND METHODS

Sufficient quantities of Daba, oak tasar and bivoltine mulberry cocoons were collected from Bihar (Chaibasa), Uttar Pradesh (Bhimtal) and Karnataka (Bangalore).

Cooking process:

The stifled Daba and oak tasar cocoons were cooked in a solution of an organic amine for 50 minutes and 30 minutes, respectively, at 80 °C (patent applied for). The bivoltine mulberry cocoons were cooked as per the method described elsewhere (Sonwalkar, 1985). The cocoons were reeled slowly with utmost care. While reeling, successive reeled lengths of 109.72 meters (120 yards) were cut and numbered sequentially so as to identify the location of small hanks in the cocoon during subsequent testing. The numbers given were termed as layers. At least 30 samples from each layer of bave were collected for the subsequent study.

Determination of size and its variation:

Each layer representing 109.72 meters of bave was weighed on an electronic balance and the size (d), i.e., fineness, was determined. From a number of weights of each layer the variation of size was also calculated.

Mechanical properties:

The tenacity, breaking elongation and modulus of the bave were determined on an Instron (4301) tensile testing instrument interfaced with a computer under standard atmospheric conditions, i.e., relative humidity 65% and temperature 27 °C. A gauge length of 5 cm and cross-head speed of 5 cm/min. were chosen for conducting these tests. The test specimen was mounted between the jaws at a pre-tension level of 0.55 g/d. At least 30 tests were conducted for each specimen. During testing, the samples which showed jaw breaks (tendency to break close to the jaws) were excluded.

Determination of residual sericin:

A total of 30 leas of bave from different cocoons representing a particular layer was first weighed on an electronic balance. The leas were subsequently degummed in a solution of 25% Marseilles soap for 90 minutes at boil keeping the material:liquor ratio of 1:50. The residual sericin content of layers was calculated on the basis of the difference in conditioned weight before and after degumming to the initial weight expressed as percentage.

RESULTS AND DISCUSSION

Filament length:

The progressive change in filament size, breaking load, tenacity, breaking extension, modulus and residual sericin with respect to the position of bave in cocoons have been depicted in Figures 1-18.

It is apparent from Figures 1-3 that the filament size decreased from the outer to the inner layer of a cocoon. The extent of reduction ranged from 11.07 deniers to 5.87 deniers, 5.55 deniers to 3.44 deniers and 3.53 deniers to 1.02 deniers for Daba, oak tasar and bivoltine mulberry cocoons, respectively. The corresponding percentage reduction in denier was 47.2%, 38.7% and 71.5% for Daba, oak tasar and bivoltine mulberry cocoons, respectively.

Mechanical properties:

The tenacity with respect to the position of the bave in different layers showed an increasing trend in the case of bivoltine mulberry cocoons and a marginal rise for oak tasar cocoons while no such specific trend was observed for Daba cocoons. High CV % values ranging from 10% to 23% were observed for the filaments. The tenacity ranged from 2.84-4.31 g/d, 3.74-4.54 g/d and 2.84-3.40 g/d for bivoltine mulberry, oak and Daba tasar cocoons, respectively. However, the breaking load of bave was found to follow a trend similar to that of the filament size with successive layers, as shown in Figures 7-9. The increasing trend of tenacity for bivoltine cocoons suggest a probable improvement in the arrangement of molecular chains in the filament from the outer to the

Fig. 1: Change in filament size with layers for Daba cocoons.

Fig. 1 : Variation du titre de la bave en fonction des couches chez les cocons Daba.

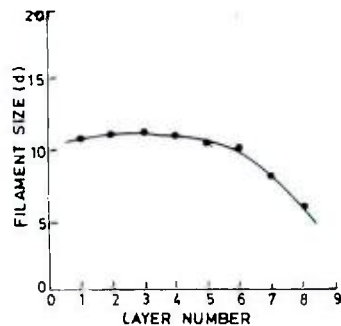


Fig. 4: Change in tenacity with layers for Daba cocoons.

Fig. 4 : Variation de la résistance en fonction des couches chez les cocons Daba.

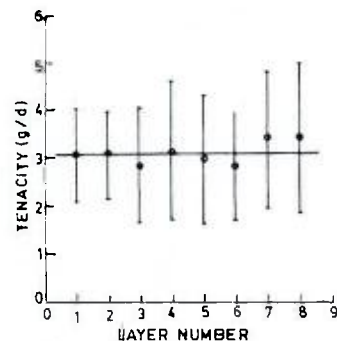


Fig. 2: Change in filament size with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 2 : Variation du titre de la bave en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

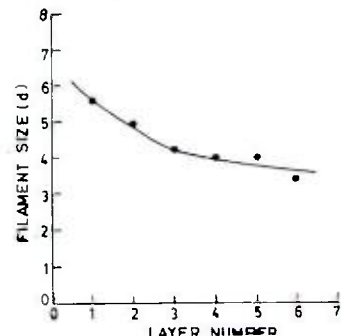


Fig. 5: Change in tenacity with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 5 : Variation de la résistance en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

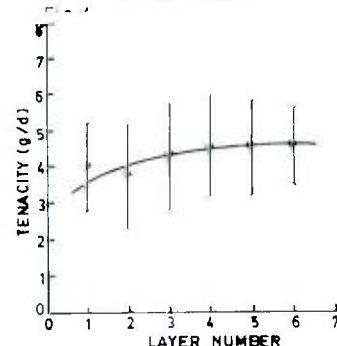


Fig. 3: Change in filament size with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 3 : Variation du titre de la bave en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.

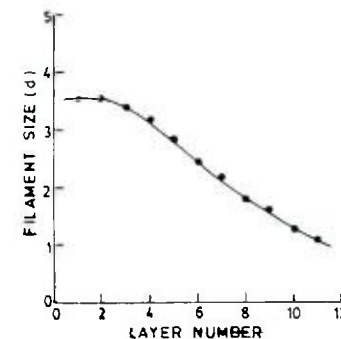


Fig. 6: Change in tenacity with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 6 : Variation de la résistance en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.

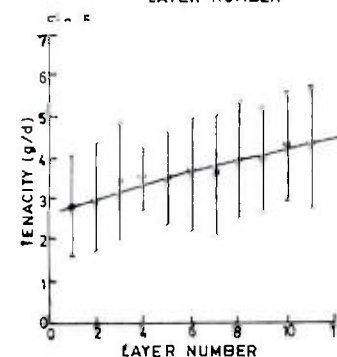


Fig. 7: Change in breaking load with layers for Daba cocoons.

Fig. 7 : Variation de la charge de rupture en fonction des couches chez les cocons Daba.

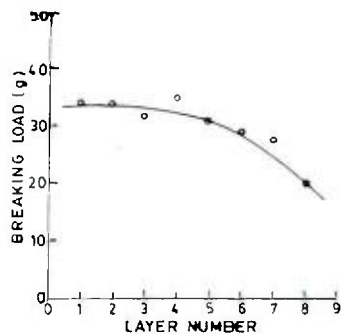


Fig. 8: Change in breaking load with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 8 : Variation de la charge de rupture en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

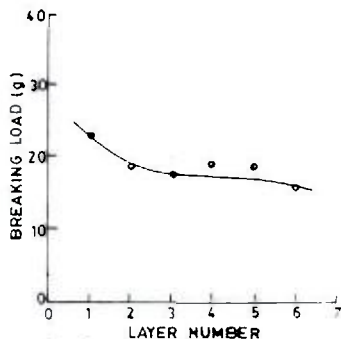


Fig. 9: Change in breaking load with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 9 : Variation de la charge de rupture en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.

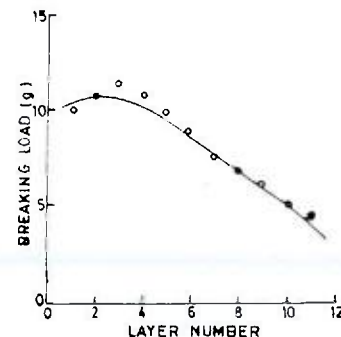


Fig. 10: Change in breaking extension with layers for Daba cocoons.

Fig. 10 : Variation de l'allongement de rupture en fonction des couches chez les cocons Daba.

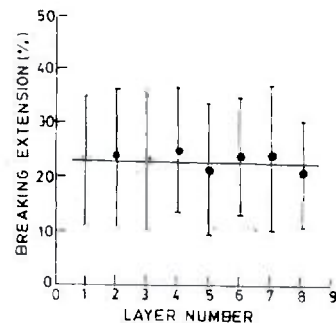


Fig. 11: Change in breaking extension with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 11 : Variation de l'allongement de rupture en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

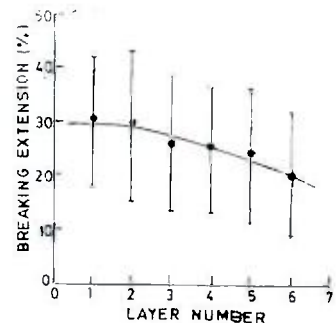


Fig. 12: Change in breaking extension with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 12 : Variation de l'allongement de rupture en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.

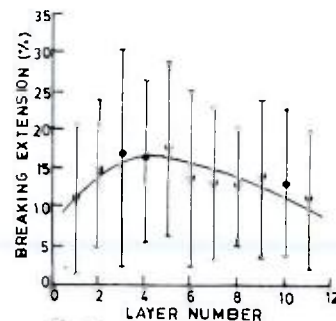


Fig. 13: Change in initial modulus with layers for Daba cocoons.

Fig. 13 : Variation du coefficient de rupture en fonction des couches chez les cocons Daba.

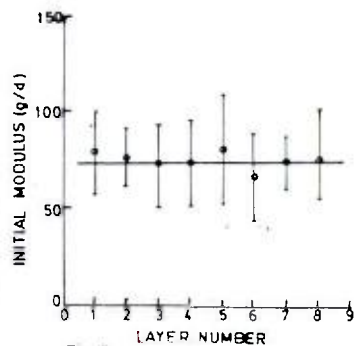


Fig. 14: Change in initial modulus with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 14 : Variation du coefficient de rupture en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

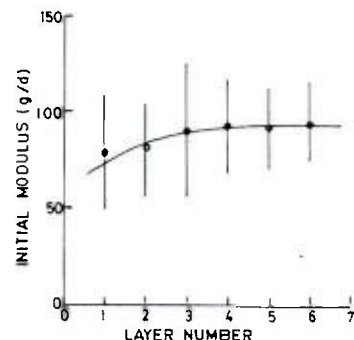


Fig. 15: Change in initial modulus with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 15 : Variation du coefficient de rupture en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.

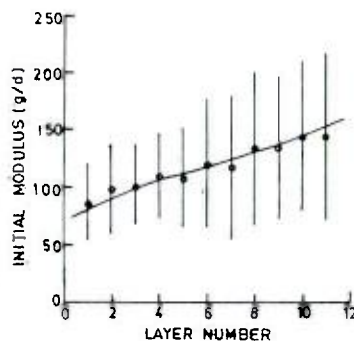


Fig. 16: Change in residual sericin with layers for Daba cocoons.

Fig. 16 : Variation de la sérécine résiduelle en fonction des couches chez les cocons Daba.

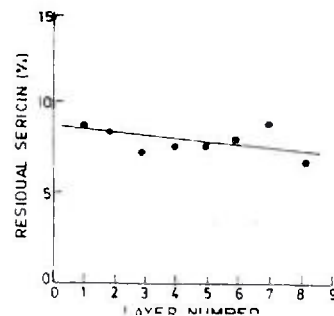


Fig. 17: Change in residual sericin with layers for oak tasar cocoons.

Fig. 17 : Variation de la sérécine résiduelle en fonction des couches chez les cocons tasar du chêne.

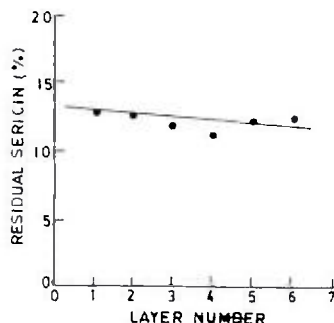
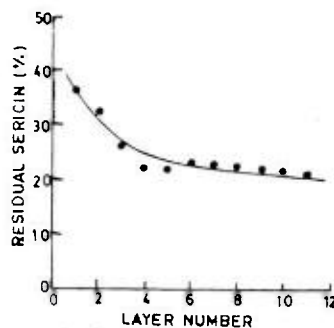


Fig. 18: Change in residual sericin with layers for bivoltine mulberry cocoons.

Fig. 18 : Variation de la sérécine résiduelle en fonction des couches chez les cocons bivoltins mûriers.



inner layer. However, this improvement in tenacity could not compensate the reduction in filament size, resulting in a decrease in the breaking load for bivoltine mulberry cocoons. For oak and Daba varieties, since the tenacity remained more or less constant, the reduction in the breaking load can only be ascribed to the reduction in the filament size.

Breaking extension values for bivoltine mulberry cocoons varied from 17.5% to 10.8% with a very high inherent variation ($CV\% = 30\%-44.5\%$). In the case of oak tasar cocoons, the average breaking extension showed a discernible trend to decrease from 29.6% to 20.3% while for the Daba cocoons no significant difference in breaking extension (24.6% to 20.4%) was found from layer to layer. A high variation in extension ($CV\% = 23\%-29\%$) was found for oak and Daba tasar cocoons, too.

The modulus ranged from 66.4 g/d to 79.9 g/d, 78.6 g/d to 93.5 g/d and 86.9 g/d to 143.9 g/d for Daba, oak tasar and bivoltine mulberry cocoons, respectively. No change in modulus in Daba tasar cocoons could be seen from layer to layer while a definite increasing trend was observed in the case of bivoltine mulberry cocoons. Oak tasar cocoons showed a marginal rise up to the third layer and remained constant beyond that.

The change in characteristics from the outer to the inner layer have been shown in consolidated form in Table I. The decrease in filament size for both mulberry and tasar cocoons from the outer to the innermost layer can be ascribed to the gradual decrease in the concentration of aqueous silk as the spinning process progresses from an initial polymer solution of about 30 wt. % to about 15 wt. %, as observed by Iizuka (1993).

Table I. Change in characteristics of the bave from the outer to the inner layer of cocoons.

Tableau I. Variation des caractéristiques de la bave de la couche externe à la couche interne des cocons.

Property <i>Propriété</i>	Daba tasar <i>Tasar Daba</i>	Oak tasar <i>Tasar du chêne</i>	Bivoltine mulberry <i>Bivoltin mûrier</i>
Filament size <i>Titre de la bave</i>	Decrease <i>Diminution</i>	Decrease <i>Diminution</i>	Decrease <i>Diminution</i>
Tenacity <i>Résistance</i>	Constant <i>Constante</i>	Marginal decrease <i>Légère diminution</i>	Increase <i>Augmentation</i>
Breaking extension <i>Allongement de rupture</i>	Constant <i>Constante</i>	Decrease <i>Diminution</i>	Increase followed by decrease <i>Augmentation puis diminution</i>
Modulus	Constant	Marginal increase	Increase
<i>Coefficient de rupture</i>	<i>Constant</i>	<i>Légère augmentation</i>	<i>Augmentation</i>

The tenacity hardly changed for Daba, marginally increased for oak tasar, but showed a definite tendency to increase for bivoltine mulberry cocoons towards inner layers. The filament in these layers was finer too. It has been postulated that a thinner thread is more crystalline and/or more ordered since the thinner thread must have been produced through narrower anterior divisions of the silk gland and thus under high shear rates (Iizuka *et al.*, 1994). If so, the filament from the interior layers is expected to be stronger too, which is the case for mulberry cocoons. In the case of Daba and oak tasar varieties, the effect of decrease in the spinning speed as postulated by Tsubouchi *et al.* (1988) may be

compensating the effect of reduction in filament size as postulated by Iizuka *et al.* (1993a, 1993b), showing no or a marginal change in tenacity.

The breaking extension showed practically no change for Daba tasar filament. However, it did show a reduction in the inner layers for oak tasar and mulberry silk filament. This can be ascribed to the fact of a possibly more crystalline/ordered structure of the filament in the inner layers, as suggested by Iizuka *et al.* (1993c), in comparison to that of outer layers.

In the case of bivoltine mulberry cocoons, the more ordered structure of the filament, as suggested by Iizuka *et al.* (1994), in the finer region may be responsible for showing an increasing trend of initial modulus since the filament gets finer towards inner layers.

Residual sericin content:

The residual sericin content decreased marginally for Daba and oak tasar cocoons. For mulberry cocoons, it decreased up to the fourth layer starting from the outer layer and thereafter remained unchanged. The values changed from 8.6% to 6.7%, 12.9% to 11.3% and 34.9% to 20% for Daba, oak tasar and mulberry varieties.

In the case of bivoltine mulberry cocoons, the methodology followed in the present case (Sonwalkar, 1985) for cooking did not remove an appreciable quantity of sericin. Therefore a true reflection of the natural variation in sericin is expected from layer to layer. So, a progressive reduction in the residual sericin content from the outer to the fourth layer is a natural characteristic of sericin distribution in the case of bivoltine mulberry cocoons. To protect itself from the unfavourable environmental conditions, the insect may deliver more protein to make the outer layer of the cocoon shell tough.

Daba and oak tasar insects will also probably behave in a similar fashion. However, the treatment used for Daba and oak tasar cocoons with organic amine for cooking is vigorous in nature. As a result, the outer part of the cocoon shell gets more affected by this than the inner part. Hence the removal of sericin becomes disproportionate for different layers. More sericin is removed from the outer layers than the interiors, showing a marginal reduction in residual sericin from outer to inner layers.

CONCLUSIONS

The following conclusions can be drawn about the physical characteristics and sericin content from outer to inner layers of cocoons.

The filament size of all the varieties of cocoons decreases from the outer to the inner layer.

The tenacity remains constant for Daba and rises marginally for oak tasar but shows a definite increasing trend for bivoltine mulberry cocoons.

The breaking extension remains constant for Daba, decreases for oak tasar but shows an initial rise followed by a fall for mulberry cocoons.

The initial modulus remains constant for Daba and rises marginally for oak tasar, but shows a definite increasing trend for the bivoltine mulberry variety.

Residual sericin shows a tendency to decrease up to the fourth layer from the outermost layer for bivoltine mulberry cocoons. Thereafter it remains unchanged. Daba and oak tasar cocoons show a marginal decrease from the outer to the inner layer.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Central Silk Board, Ministry of Textiles, Govt. of India, Bangalore, India, for the financial assistance under the National Sericulture Project.

REFERENCES

- IIZUKA E. (1993) Spinning process and physical properties of silk thread. Chemical Processing of Silk, I.I.T., Delhi, India, 27-45.

- IIZUKA E., OKACHI Y., SHIMIZU M., FUKUDA A., HASHIZUME M. (1993a) Studies on the physical properties of Indian non-mulberry silks. III. *Antheraea mylitta* D. Indian J. Seric., 32(2), 175-183.
- IIZUKA E., KAWANO R., KITANI Y., OKACHI Y., SHIMIZU M., FUKUDA A. (1993b) Studies on the physical properties of Indian non-mulberry silks. I. *Antheraea proylei* J. Indian J. Seric. 32(1), 27-36.
- IIZUKA E., OKACHI Y., OHBAYASHI S., FUKUDA A., SHIMIZU M. (1993c) Studies on the physical properties of Indian non-mulberry silks. II. *Antheraea assama* Westw. J. Seric., 1(1), 1-8.
- IIZUKA E., UEGAKI K., TAKAMATSU H., OKACHI Y., KAWAI E. (1994) Studies on the physical properties of silk thread from cocoons of Thai local varieties of silkworms, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 63(1), 64-71.
- SONWALKAR T.N. (1985) Silk reeling and handicrafts. Sericologia, 25(2), 183-205.
- TSUBOUCHI K.K., IMAI T., SUDO M. (1988) Physical properties of the cocoon filament of the wild silkworm, *Antheraea yamamai*. Wild Silkmths, 119-126.

ETUDE DES CHANGEMENTS PROGRESSIFS DES CARACTERISTIQUES DE LA BAVE (FILAMENT) SUR SA LONGUEUR POUR LES COCONS DU TASAR ET DU MURIER

R. CHATTOPADHYAY, S. DAS, M. L. GULRAJANI & K. SEN

Department of Textile Technology, Indian Institute of Technology, Hauz Khas,
New Delhi - 110-016, Inde.

Nous avons évalué les propriétés physiques et le contenu résiduel en sérécine de la bave de cocons Daba (*Antheraea mylitta*), du tasar du chêne (*Antheraea proylei*) et du ver à soie mûrier bivoltin (*Bombyx mori*) selon sa position dans les différentes vestes du cocon. Nous constatons une diminution du titre de la bave des couches externes aux couches les plus internes dans toutes les variétés. Bien que nous ayons trouvé que la résistance moyenne du fil augmente, des couches externes aux couches les plus internes, pour les cocons du ver à soie mûrier bivoltin, nous n'avons pas observé cette tendance spécifique pour les cocons du Daba. L'augmentation est marginale pour les cocons du tasar du chêne. Nous observons une tendance similaire pour le coefficient de rupture. L'allongement de rupture de la première jusqu'à la dernière veste est constant pour les cocons Daba, baisse pour les cocons tasar du chêne et présente une augmentation suivie d'une baisse pour les cocons bivoltins mûriers. La sérécine résiduelle baisse de manière marginale de la veste externe à la veste interne dans le cas des cocons du tasar. Cependant, pour les cocons mûrier, elle baisse rapidement au début jusqu'à la quatrième couche feuillet et par la suite ne change pas.

INTRODUCTION

Les tasars du chêne et du Daba sont deux soies non mûrier populaires en Inde, qui appartiennent à la catégorie des tasars tropicaux ou tempérés selon la région de culture. Alors que le Daba appartient à l'espèce *Antheraea mylitta* D. et est une race pure, le ver à soie tasar du chêne est le produit hybride interspécifique d'*Antheraea roylei* et d'*Antheraea pernyi* appelé *Antheraea proylei* J. Le ver à soie du mûrier bivoltin est une variété bien connue du *Bombyx mori* L. La soie étant un produit naturel, elle présente de manière inhérente un certain nombre de variations de toutes ses caractéristiques. Il est non seulement important de connaître l'étendue de la variabilité de ses diverses propriétés physiques et mécaniques mais aussi de savoir si ses caractéristiques tout au long de sa longueur suivent un certain schéma - étant donné qu'un tel schéma peut entraîner des changements perceptibles sur l'apparence du produit final - et si oui, pourquoi? Les propriétés physiques d'*Antheraea mylitta* D. (Iizuka et coll., 1993a), *Antheraea proylei* J. (Iizuka et coll., 1993b), *Antheraea yamamai* (Tsubouchi et coll., 1988) et *Bombyx mori* L. (Iizuka, 1993) de variétés japonaises, chinoises et thaïlandaises ont été étudiées par rapport à la taille de leur filament selon la position des vestes, à la période de filage, dans certains cas pour le filament femelle ou mâle de la même variété. Les études précédentes ont abordé cet aspect de manière limitée surtout pour les soies des variétés *Antheraea mylitta* D., *Antheraea proylei* J. et *Bombyx mori* L.

Le but de cette recherche est d'étudier le changement progressif des caractéristiques de la bave dans sa longueur pour les variétés du Daba, du tasar du chêne et du mûrier bivoltin que l'on rencontre dans trois différentes régions en Inde, respectivement dans le Bihar, dans l'Uttar Pradesh et dans le Karnataka

Méthodes de cuisson :

Nous avons cuit les cocons étouffés du Daba et du tasar du chêne dans une solution d'amine organique pendant respectivement 50 et 30 minutes, à 80 °C (nous avons déposé une demande de brevet). Les cocons du Bombyx bivoltin sont cuits d'après une autre méthode (Sonwalkar, 1985). Les cocons sont dévidés lentement et très soigneusement. Pendant le dévidage, des longueurs de 109,72 mètres de long (120 yards) sont prélevées, dévidées tour à tour et numérotées de manière séquentielle, de manière à identifier l'emplacement de petits matreaux dans le cocon pour les essais ultérieurs. Les numéros donnés désignent les couches. Nous avons recueilli au moins 30 échantillons de chaque couche de bave pour l'étude présente.

Détermination de la taille et de sa variation :

Nous avons pesé chaque couche représentant 109,72 mètres de bave sur une balance électronique et nous en avons déterminé la taille (d), c'est à dire la finesse. La variation de la taille a aussi été calculée à partir d'un certain nombre de pesées de chaque couche.

Propriétés mécaniques :

La résistance, l'allongement de rupture et le module de la bave sont déterminés sur un vérificateur de résistance Instron (4301) relié à un ordinateur, dans des conditions atmosphériques normales, c'est-à-dire une humidité relative de 65 % et une température de 27 °C. Nous avons choisi une longueur de jauge de 5 cm et une vitesse de tête de piston de 5cm/min. pour effectuer ces essais. L'échantillon test est monté entre les mâchoires à un niveau de pré-tension de 0,55 g/d. Nous réalisons au moins 30 essais pour chaque échantillon. Nous avons exclu les échantillons qui présentaient des ruptures à la mâchoire (tendance à se casser près des mâchoires) pendant les essais.

Evaluation de la sérécine résiduelle :

Nous avons d'abord pesé sur une balance électronique un total de 30 matreaux de bave de différents cocons représentant une couche particulière. Nous avons ensuite décousu les matreaux dans une solution composée de 25% de savon de Marseille en ébullition, pendant 90 minutes, en gardant le rapport matériel:solution à 1:50. Le contenu en sérécine résiduelle des couches est calculé sur la base de la différence du poids conditionné avant et après le décousage, par rapport au poids initial, exprimé en pourcentage.

RESULTATS ET DISCUSSION**Longueur du filament :**

Les changements progressifs du titre de la bave, de la charge de rupture, de la résistance, de l'allongement de rupture, du module et de la sérécine résiduelle sont présentés dans les figures 1 à 18.

Il est apparent d'après les figures 1 à 3 que le titre de la bave baisse de la couche externe à la couche interne du cocon. L'étendue de la baisse est comprise entre 11,07 et 5,87 deniers. 5,55 et 3,44 deniers et 3,53 et 1,02 deniers respectivement pour les cocons Daba, tasar du chêne et mûrier bivoltin. La baisse de pourcentage correspondante en deniers est respectivement de 47,2 %, de 38,7 % et de 71,5 % pour les cocons Daba, tasar du chêne et mûrier bivoltin.

Propriétés mécaniques :

La résistance, en fonction de l'emplacement de la bave dans les différentes couches augmente chez les cocons du mûrier bivoltin, augmente de manière marginale chez les cocons du tasar du chêne tandis que chez les cocons du Daba, on n'observe pas cette tendance spécifique. Nous observons des valeurs de % CV élevées comprises entre 10 et 23 % dans les filaments. La résistance est comprise respectivement entre 2,84-4,31 g/d, 3,74-4,54 g/d et 2,84-3,40 g/d pour les cocons du mûrier bivoltin, du tasar du chêne et du Daba. Cependant, nous observons que la charge de rupture de la bave suit une tendance similaire à celle du titre de la bave avec des couches successives, ainsi que le montrent les figures 7 à 9. La tendance à la hausse de la résistance des cocons bivoltins suggère une amélioration probable de l'arrangement des chaînes moléculaires du filament, de la couche externe jusqu'à la

couche interne. Cependant, pour les cocons du mûrier bivoltin, cette amélioration de la résistance ne peut pas compenser la diminution du titre de la bave, ce qui entraîne une diminution de la charge de rupture. Pour les variétés du Daba et du chêne, la résistance restant plus ou moins constante, la baisse de rupture de charge ne peut être attribuée qu'à la réduction du titre de la bave.

Les valeurs d'allongement de la rupture varient pour les cocons bivoltins entre 17,5 et 10,8 % avec une variation inhérente très élevée (CV % = 30 % - 44,5 %). Dans le cas des cocons du tasar du chêne, l'allongement moyen présente une tendance à la baisse de 29,6 % à 20,3 %, tandis que nous n'observons pas de différence significative dans l'allongement de rupture (24,6 % à 20,4 %) d'une couche à l'autre pour les cocons du Daba. Nous enregistrons également une variation élevée (CV % = 23 % - 29 %) chez les cocons du tasar du chêne et du Daba.

Le coefficient de rupture est compris respectivement entre 66,4 g/d et 79,9 g/d, entre 78,6 g/d et 93,5 g/d et entre 86,9 g/d et 143,9 g/d pour les cocons du Daba, du tasar du chêne et du mûrier bivoltin. Nous n'observons pas de changement chez les cocons du tasar du Daba d'une couche feuillet à l'autre tandis que nous relevons une nette tendance à la hausse dans le cas des cocons du mûrier bivoltin. Les cocons du tasar du chêne présentent une augmentation marginale jusqu'à la troisième couche et demeurent constants au-delà.

Les changements des caractéristiques de la couche externe à la couche interne sont présentés dans leur ensemble dans le Tableau 1. La diminution du titre de la bave à la fois pour les cocons du tasar et du mûrier, de la couche externe à la couche la plus interne, peut être attribuée à la baisse progressive de la concentration de soie aqueuse au fur et à mesure que le processus de filage s'effectue, partant d'une solution de polymère au début de 30 wt. % et à la fin de 15 wt %, ainsi que l'a observé Iizuka (1993).

La résistance change à peine chez le Daba, augmente de manière marginale chez le tasar du chêne, mais est nettement orientée à la hausse chez les cocons du mûrier bivoltin vers les couches internes. Le filament de ces couches est aussi plus fin. Il a été avancé qu'un fil plus fin est plus cristallin et/ou plus ordonné puisque le fil plus fin a dû être produit à partir de divisions antérieures plus étroites de la glande séricigène et est donc sujet à des taux de cisaillement élevés (Iizuka et coll., 1994). S'il en est ainsi, il est vraisemblable que le filament des couches internes soit plus résistant, ce qui est le cas chez les cocons du mûrier. Dans le cas des variétés du Daba et du tasar du chêne, l'effet de la diminution de la vitesse de filage, ainsi que l'ont avancé Tsubouchi et coll. (1988), compense peut-être l'effet de la diminution du titre de la bave, en ne présentant aucun changement de résistance ou un changement marginal, ainsi que l'ont avancé Iizuka et coll. (1993a., 1993b).

L'allongement de rupture du filament du Daba ne change pratiquement pas. Cependant, il diminue dans les couches internes pour les filament de soie du tasar du chêne et du mûrier. Iizuka et coll. (1993c) ont suggéré que cela peut-être attribué à une structure sûrement plus cristalline/ordonnée du filament des couches intérieures par rapport à celui des couches externes.

Iizuka et coll. (1994) ont avancé que pour les cocons du mûrier bivoltin, la structure plus ordonnée du filament dans la région la plus fine, peut expliquer la tendance à la hausse du coefficient de rupture initial étant donné l'affinement du filament vers les couches internes.

Contenu en sérécine résiduel :

Le contenu en sérécine résiduelle baisse de manière marginale chez les cocons Daba et du tasar du chêne. Pour les cocons du mûrier, il baisse jusqu'à la quatrième couche à partir de la couche externe, et demeure inchangé après. Les valeurs passent de 8,6 % à 6,7 %, de 12,9 à 11,3 % et de 34,9 à 20 % chez les variétés du Daba, du tasar du chêne et du mûrier.

La méthodologie suivie dans le cas présent (Sonwalkar, 1985) pour la cuisson des cocons du mûrier bivoltin, n'a pas retiré une quantité de sérécine importante. Par conséquent, il est vraisemblable qu'il existe une véritable variation naturelle du taux de sérécine d'une couche à l'autre. Ainsi, une diminution progressive du contenu en sérécine résiduelle de la couche externe jusqu'à la quatrième couche est une caractéristique naturelle de la distribution de sérécine chez les cocons du mûrier bivoltin. Il se peut que l'insecte produise plus de protéines pour renforcer les couches externes de la coque du cocon, afin de se protéger de conditions environnementales peu favorables.

Les insectes Daba et du tasar du chêne se comportent probablement de manière similaire. Cependant, la solution d'amine organique utilisée pour la cuisson des cocons du Daba et du tasar du

chêne est naturellement forte. Par conséquent, la partie externe de la coque du cocon est plus affectée par ce traitement que la partie interne. L'enlèvement de sérécine est donc irrégulier pour les différentes couches. La sérécine enlevée est plus importante dans les couches externes que dans les couches internes, et il existe une diminution marginale de la sérécine résiduelle des couches externes aux couches internes.

CONCLUSIONS

Nous pouvons tirer les conclusions suivantes sur les variations des caractéristiques physiques et du contenu en sérécine des couches externes aux couches internes des cocons.

Le titre de la bave de toutes les variétés de cocons diminue des vestes externes aux vestes internes.

La résistance demeure constante chez le Daba, augmente de manière marginale chez le tasar du chêne mais est nettement orientée à la hausse chez les cocons de mûrier bivoltin.

L'allongement de rupture reste le même chez le Daba, baisse chez le tasar du chêne mais augmente puis baisse chez les cocons du mûrier. Le coefficient de rupture initial reste égal chez le Daba, augmente de manière marginale chez le tasar du chêne, mais est nettement orienté à la hausse pour la variété du mûrier bivoltin.

La sérécine résiduelle a tendance à baisser à partir de la couche la plus externe jusqu'à la quatrième couche chez les cocons du mûrier bivoltins. Après elle demeure inchangée. On observe une baisse marginale de la couche externe à la couche interne chez les cocons du Daba et du tasar du chêne.

BREEDING OF A MULBERRY ARTIFICIAL TRIPLOID VARIETY, DAZHONGHUA

YANG J.-H., YANG X.-H. & LUO C.-J.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road, Hangzhou, Zhejiang 310021, China.

*A tetraploid mutant, R 811, was induced by acute gamma-ray irradiation of winter buds at the swelling stage of the diploid cultivar, Shinichinose, with the dose of 5612 rad. A mulberry artificial triploid variety, Dazhonghua (*Morus alba*), was bred by crossing between the female diploid cultivar, Dazhongsang (*M. multicaulis*), and the male tetraploid, R 811 (*M. alba*). Dazhonghua showed the typical characters of mulberry triploids. It gave a high leaf yield with quite good leaf quality and moderate resistance to bacterial blight. Leaf production increased by 15-25% compared with Heyebai, the standard cultivar. The variety was approved by the Governmental Crop Variety Evaluation Committee, and was appointed as a new commercial mulberry variety for extension. Some breeding techniques are also discussed.*

Keywords: Mulberry, polyploid breeding, artificial triploid, variety Dazhonghua.

INTRODUCTION

As some of the polyploids of mulberry, especially triploids, possess better economic characters, much attention has been paid by mulberry breeders to the investigation of natural polyploids and their utilisation, artificial polyploid induction and breeding. A number of good artificial triploid varieties have been released and used in sericulture production, such as Shinkenmochi, Aobanezumi, etc., in Japan, which could increase the leaf yield by 10-50% over standard varieties (Tojyo, 1985). In China, researchers have made great progress in polyploid breeding during recent decades (Yang *et al.*, 1991). Since the beginning of the 1980s, the authors have studied the techniques of tetraploid induction and obtained tens of artificial tetraploids; based on which, they have studied the techniques of triploid breeding and bred a number of artificial triploids (Yang *et al.*, 1984, 1989). This paper reports the breeding of the mulberry artificial triploid variety, Dazhonghua.

BREEDING PROCESS

1. Induction of parent tetraploid:

The diploid parent for the induction was var. Shinichinose (*Morus alba*) introduced from Japan. The buds of one-year-old grafts at the swelling stage in spring 1980 were irradiated with acute gamma-rays at a dose of 5612 rad at the exposure rate of 2200 R/h. After irradiation, in the V₁G (vegetative generation) in 1981 a mutant was found, which showed typical morphological characters of polyploid mulberry. Its leaves became larger, the leaf width increased by about 23%, the leaf thickness by about 20% and the internodal length decreased, but it showed a slight decrease in the number and length of branches. It was a tetraploid, as shown by chromosome examination ($2n = 56$), and was named R 811. The laboratory tests indicated that the leaf quality of R 811 improved but the leaf yield reduced, i.e., cocoon shell output per 10,000 larvae fed with these leaves increased by 6% and the leaf output decreased by 8%. The tetraploid of R 811 could not be directly used for production due to its lower yield, but it was good as a parent for breeding a triploid.

2. Breeding of triploid:

The induced tetraploid R 811 belonged to *Morus alba* with the characters of very good leaf quality, high budding rate, slightly lower leaf yield and bearing of male flowers. Consequently, it was taken as paternal parent for the breeding of triploid and the maternal parent selected was a diploid female variety, Dazhongsang, which is one of the most widely used local varieties in the province and belongs to *Morus multicaulis* with the characters of high leaf yield, shorter internode and dwarf disease resistance but a slightly poor leaf quality. The objectives of this combination were to combine the good traits of the parents so as to obtain a high yield, good quality and disease-resistant hybrid triploid progeny through crossing between the different species, ploidy and geographically distant parent varieties.

In the spring of 1985, an artificial sexual crossing between Dazhongsang (female, 2x) and R 811 (male, 4x) was conducted, from which the hybrid soroses were picked up one after another as they gradually ripened and stored in a refrigerator at the temperature of 2-4 °C for 7-10 days in order to keep them from mildew and rot and to enhance the germinating ability of the hybrid seeds. The seeds were sown carefully and raised to grow robust seedlings. In the winter, some inferior seedlings were eliminated, the other 50 ones were transplanted into the selection field. The following year, selection of seedlings was carried out according to the breeding objectives. After seedling selection, 4 superior plants named 8608, 8610, 8614 and 8615 were obtained, which had the morphological characters of vigorous growth, short internode, large leaf size and looked like polyploids. They were individually identified as triploids ($2n = 42$) through the observation of chromosomes. Subsequently, they were subjected to grafting so as to produce vegetatively propagated tree lines. Then, after 4 years' tree-line selection in the test field in randomised block arrangement, they were compared with the standard variety, Heyebai; 8610 was found to be the best and named Dazhonghua in 1989.

Afterwards, rural and regional trials were carried out. Dazhonghua was evaluated and approved by the Zhejiang Provincial Crop Evaluation Committee in Hangzhou, China, in 1996 and was appointed as a new commercial mulberry variety for extension.

3. Illustration of the breeding process:

The breeding process of Dazhonghua is illustrated in Fig. 1.

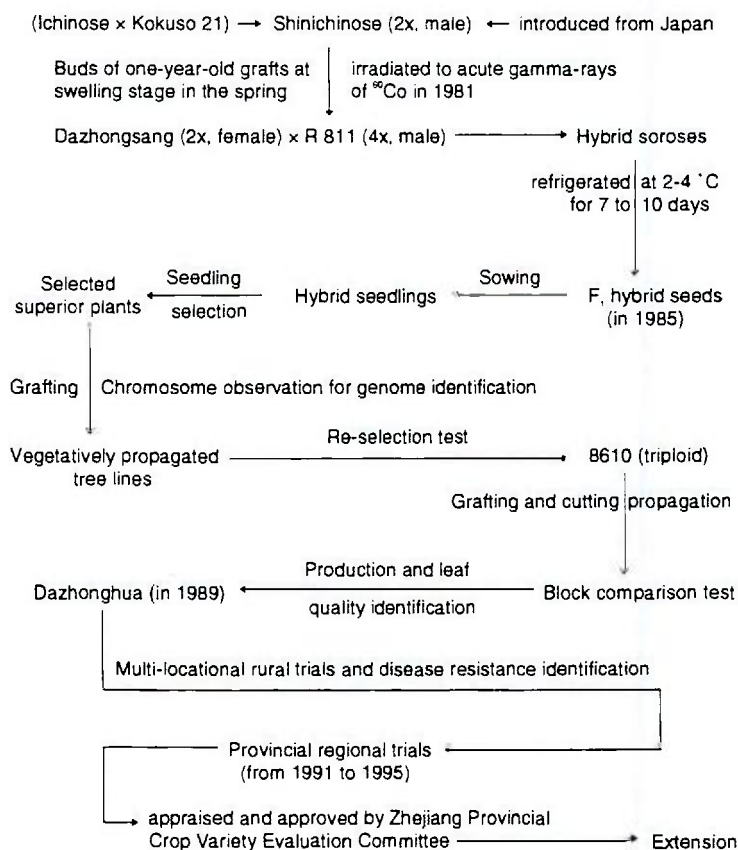


Fig. 1: Breeding process of Dazhonghua.

MAJOR ECONOMIC CHARACTERS

The major economic characters, i.e., leaf yield, leaf quality, shown by the rearing results and disease resistance are given in Tables I, II and III, respectively.

1. Leaf yield:

Dazhonghua possesses the traits of vigorous growth, short internode of branches and large leaf size, all of which lead to high productivity.

In a block comparison test after 2-4 years of growth, the annual leaf output per ha of Dazhonghua was 30,888.9-43,044.4 kg, i.e., a 27-6-33.7% increase over that of the standard variety, Heyebai (Husang No. 32), and there was a highly significant difference (significant at the 1% level). In provincial regional trials, leaf yields in different tested areas were all higher than those of the control. In the third year of growth under the planting space of 133 × 50 cm, the mean yearly leaf production

Table I. Annual leaf yield of Dazhonghua (kg/ha, $\bar{X} \pm SD$).

Tableau I. Rendement en feuilles annuel de Dazhonghua (kg/ha, $\bar{X} \pm SD$).

Item Tests		Dazhonghua	Heyebai ^a	Index ^b Indice
Block comparison tests	2nd year / 2 ^e année	30,888.9** ± 3,378.7	23,100.0 ± 1,287.5	133.7
Test de comparaison	3rd year / 3 ^e année	43,044.4** ± 2,291.6	33,733.3 ± 2,466.7	127.6
des parcelles	4th year / 4 ^e année	35,561.1** ± 1,607.8	27,611.1 ± 2,736.1	128.8
Provincial regional trials	Plain area / Plaines	31,652.0** ± 1,468.5	24,217.5 ± 1,391.2	130.7
Essais régionaux	Hilly area / Montagnes	37,140.0* ± 2,208.4	33,313.5 ± 1,751.2	111.5
(3rd year / 3 ^e année)	Shoaly land /	35,100.0** ± 2,734.5	28,810.5 ± 97.8	121.8
	Tidal land / Littoral	34,920.0 ^{NS} ± 540.8	34,050.0 ± 525.6	102.6
	Mean / Moyenne	34,703.2* ± 2,269.5	30,097.8 ± 4,553.2	115.3
Provincial regional trials	Plain area / Plaines	13,680.0** ± 1,731.3	9,555.0 ± 1,182.3	143.2
(leaf yield in spring crop)	Hilly area / Montagnes	15,840.6* ± 1,440.0	13,728.0 ± 439.9	115.4
Essais régionaux	Shoaly land /	18,500.0** ± 2,132.3	13,375.5 ± 572.8	138.4
(récolte de printemps)	Tidal land / Littoral	14,315.0 ^{NS} ± 239.2	13,284.0 ± 591.9	107.4
	Mean / Moyenne	15,581.0* ± 1,857.7	12,485.6 ± 1,699.6	124.7
Rural trials	Plain area / Plaines	44,010.0	32,509.5	135.4
Tests ruraux	Hilly area / Montagnes	18,750.0	15,000.0	125.0
(3rd year / 3 ^e année)	Tidal land / Littoral	15,300.0	13,050.0	117.2
	Mean / Moyenne	26,020.0	20,186.5	128.8

a. Diploid standard variety / Variété diploïde standard.

b. Comparison index : taking the results of Heyebai as 100 (the same in other tables) / Indice de comparaison, en prenant les résultats obtenus pour Heyebai comme valeur 100 (idem dans les autres tableaux).

$\bar{X}$: Mean / Moyenne, SD: Standard deviation / Ecart type.

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

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

NS: Not significant / Non significatif.

per ha was 34,703 kg and higher by 15.3% (difference significant at the 5% level), among which the net leaf yield in the spring crop (main rearing crop in China) was 24.7% more than that of the standard variety (difference significant at the 5% level). The rural trials showed that the leaf yield of Dazhonghua could exceed that of Heyebai by 17.2-35.4% (Table I).

Table II. Cocoon quality as revealed by silkworm rearing results ($\bar{X} \pm SD$).

Tableau II. Qualité des cocons en fonction des résultats des élevages de vers à soie ($\bar{X} \pm SD$).

Item Test			Dazhonghua	Heyebai	Index Indice
Laboratory tests Tests en laboratoire	Single cocoon weight (g)	Spring / Printemps	2.060 ^{NS} $\pm$ 0.044	2.080 $\pm$ 0.025	99.0
	Poids du cocon (g)	Autumn / Automne	1.489 ^{NS} $\pm$ 0.019	1.411 $\pm$ 0.412	105.5
	Cocoon shell weight (g)	Spring / Printemps	0.517 ^{NS} $\pm$ 0.014	0.500 $\pm$ 0.007	103.4
	Poids de la coque (g)	Autumn / Automne	0.342 ^{NS} $\pm$ 0.009	0.316 $\pm$ 0.005	108.2
	Cocoon shell percentage	Spring / Printemps	25.140 ^{NS} $\pm$ 0.384	24.080 $\pm$ 0.213	+1.06%
	Richesse soyeuse (%)	Autumn / Automne	22.900 ^{NS} $\pm$ 0.680	22.410 $\pm$ 0.517	+49%
	Cocoon yield/10,000 larvae (kg)		16.400 ^{NS} $\pm$ 0.394	16.700 $\pm$ 0.740	101.4
	Rendement en cocons/10 000 larves (kg)				
	Cocoon shell yield/10,000 larvae (kg)		3.940 ^{NS} $\pm$ 0.082	3.760 $\pm$ 0.079	104.8
	Rendement en coques pour 10 000 larves (kg)				
Provincial tests Tests régionaux	Cocoon shell crop per ha (kg)		399.00** $\pm$ 21.26	310.60 $\pm$ 22.88	128.5
	Production de coques par ha (kg)				
	Single cocoon weight (g)	Spring / Printemps	2.335 ^{NS} $\pm$ 0.075	2.218 $\pm$ 0.044	105.3
	Poids du cocon (g)	Autumn / Automne	1.833 ^{NS} $\pm$ 0.042	1.736 $\pm$ 0.001	103.9
	Cocoon shell weight (g)	Spring / Printemps	0.531 ^{NS} $\pm$ 0.025	0.529 $\pm$ 0.019	100.3
	Poids de la coque (g)	Autumn / Automne	0.408 ^{NS} $\pm$ 0.009	0.385 $\pm$ 0.004	105.9
	Cocoon shell percentage	Spring / Printemps	22.740 ^{NS} $\pm$ 0.061	23.85 $\pm$ 0.956	+1.11%
	Richesse soyeuse (%)	Autumn / Automne	22.260 ^{NS} $\pm$ 0.235	21.84 $\pm$ 0.082	+0.42%
	Cocoon yield/10,000 larvae (kg)		17.540 ^{NS} $\pm$ 0.632	17.50 $\pm$ 0.268	100.2
	Rendement en cocons/10 000 larves (kg)				
Rural tests Tests ruraux	Cocoon shell yield/10,000 larvae (kg)		3.850 ^{NS} $\pm$ 0.042	3.94 $\pm$ 0.111	97.8
	Rendement en coques pour 10 000 larves (kg)				
	Cocoon shell crop per ha (kg)		395.40* $\pm$ 14.22	329.1 $\pm$ 13.36	120.2
	Production de coques par ha (kg)				
	Cocoon yield/10,000 larvae (kg)		19.61	19.23	102.2
	Rendement en cocons/10 000 larves (kg)				
	Cocoon shell yield/10,000 larvae (kg)		66.5	64.4	103.2
	Rendement en coques pour 10 000 larves (kg)				
	Dry cocoon shell weight per 50 g fresh cocoons (g)		9.8	9.3	105.3
	Poids de coques sèches pour 50 g de cocons frais (g)				

$\bar{X}$: Mean / Moyenne. SD: Standard deviation / Ecart type.

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

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

NS: Not significant / Non significatif.

Cocoon and cocoon shell crops are the average results of spring and autumn crop, respectively.

Cocoon shell crop per ha means the cocoon shell output of rearing results from the leaves produced in 1 ha of mulberry field. Les récoltes de cocons et de coques correspondent aux résultats moyens obtenus respectivement pour l'élevage de printemps et l'élevage d'automne.

La production de coques par ha correspond à la production de coques obtenus après élevage avec des feuilles produites sur 1 ha de mûraie.

It was found that Dazhonghua assured high and stable leaf production (the regression coefficient for stable production was 1.07464) in different ecological regions, particularly in the plain where the main sericulture region of Zhejiang province is. In general, its yield was 15-25% higher than that of Heyebai, the leading mulberry cultivar both in Zhejiang and China.

2. Leaf quality:

Mulberry leaf quality is mainly evaluated by rearing silkworms. The leaf quality shown by the rearing results obtained for cocoon quantity and quality (Table II) was slightly higher and had no significant difference compared with that of Heyebai, in which the leaf quality is very good.

Due to high leaf production, the cocoon shell output per ha (the composite index for evaluating a mulberry variety) of Dazhonghua was 20% higher than that of Heyebai.

3. Resistance

Bacterial blight and dwarf are the major diseases of mulberry in China. Through artificial inoculation and field identification in severely infested areas, the results (Table III) showed that the disease resistance to bacterial blight of Dazhonghua was similar to that of Heyebai (the disease index of Dazhonghua was only slightly higher than that of Heyebai). i.e., moderate resistance to the bacterial blight disease. After more than 5 years of natural identification in seriously infested fields, there was no dwarf disease to be found.

Table III. Identification of the bacterial blight disease in the seriously infested area (disease index).

Tableau III. Identification de la flétrissure bactérienne dans la zone fortement infestée (indice de maladie).

Year <i>Année</i>	1990	1992	1993	1994	Mean <i>Moyenne</i>
Dazhonghua	11.17	28.50	3.70	3.67	11.76
Heyebai	22.73	9.97	0.35	4.16	9.30

The disease index is one kind of expression for showing the state of the disease.

$$\text{Disease index} = \frac{\sum (\text{class number} \times \text{number of diseased leaves in the class})}{\text{highest class} \times \text{total number of observed leaves}}$$

Class numbers: 0, 1, 2, 3 and 4 based on the lesions of observed leaves.

L'indice de maladie est une expression utilisée pour indiquer l'état de progression de la maladie.

$$\text{Indice de maladie} = \frac{\sum (\text{numéro de catégorie} \times \text{nombre de feuilles malades dans la catégorie})}{\text{catégorie maximale} \times \text{nombre total de feuilles observées}}$$

Numéros de catégories : 0, 1, 2, 3 and 4 en fonction des lésions observées sur les feuilles.

It was found that Dazhonghua had some traits of resistance to adverse environmental conditions such as resistance to cold, drought and water-logging.

AGRONOMICAL CHARACTERS AND CULTIVATION TECHNIQUES

1. Bio-morphological characters:

The tree of Dazhonghua is high, the branches are long, straight, relatively thick, moderate in number, brownish grey in colour, have short internodes of about 3.3 cm in length and vigorous growth (Table IV). Its winter bud is greyish and small triangle or bead in shape. The wide 4-lobed leaves are large, moderately thick and dark green (see Fig. 2). The grown tree bears very few female flowers. It belongs to *Morus alba* and is triploid.

2. Agronomical characters:

The date of budding and leaf maturation in spring is late. The budding date of Dazhonghua in Hangzhou is from the end of March to the beginning of April, the same as that of Heyebai. Hardening of leaves in late autumn is about 10 days later than that of Heyebai. It is a late budding and maturing variety, whose leaves are suitable for rearing grown larvae in spring. The variety shows very good in bud regeneration and rooting ability of hard-wood cuttings (most of the Chinese cultivars belonging to *M. multicaulis* have a very poor rooting ability of cuttings), and shows a quite high budding percentage (about 84%) and survival rate of grafts and cuttings. It expressed typical triploid superior characters.



Fig. 2: Mulberry artificial triploid variety, Dazhonghua.

Fig. 2 : Variété triploïde artificielle de mûrier Dazhonghua.

3. Points of cultivation techniques:

It is recommended that the planting space should not be very close, the space between rows and plants should not be less than 133 and 50 cm, respectively, and low cut to middle cut are suitable training forms. Proper postponement of leaf harvesting in spring can increase leaf production. Grafting and cutting can both be used for vegetative propagation. The variety is adapted to the regions of the Yangtze and Yellow River Valleys and some cold areas. It has been grown in the main sericulture regions such as the provinces of Zhejiang, Jiangsu, Sichuan, Shandong, Hebei, Xinjiang, etc. However, due to moderate resistance to bacterial blight, the extension in seriously infested areas should be avoided.

DISCUSSION

As an alternative artificial mulberry triploid, the newly bred variety Dazhonghua is excellent in shoot elongation, regeneration and rooting and it gives a very high yield of good quality leaves, which are typical characters of triploids. It and a number of other examples indicate that triploid breeding is one of the effective approaches to mulberry breeding. In breeding practice, however, selection of

parents is important. Like in conventional breeding, disease resistance depends mainly upon the parents. It is necessary to refrigerate the hybrid soroses since the germinating ability of hybrid seeds from some cross combinations for breeding triploids, particularly the combination of 4 x (female) x 2 x (male), is usually quite poor and can be enhanced by refrigerating the soroses (Watanabe, 1985).

Table IV. Agronomical characters.

Tableau IV. Caractères agronomiques.

Item Caractère		Dazhonghua	Heyebai	Index Indice
Branch	Number of branches per tree / Nombre de branches/arbre	6.6	7.9	83.5
Branche	Length of single branch / Longueur d'une ramification (cm)	171.4	145.9	117.5
	Length of branch per tree / Longueur d'une branche/arbre (m)	11.3	11.5	98.3
	Length of internode / Longueur de l'entre-noeud (cm)	3.21	4.39	73.1
	Number of buds per tree / Nombre de bourgeons/arbre	352	263	133.8
Spring leaf	Budding date (m/d, Hangzhou)	3/30-4/1	3/30-4/1	ditto
Feuille de printemps	Date de bourgeonnement (m/j, Hangzhou)			idem
	Budding percentage / Bourgeonnement (%)	84.2	69.1	+15.1%
	Number of young shoots per tree / Nombre de pousses/arbre	18.0	18.0	100.0
	Length of single young shoot / Longueur d'une pousse (cm)	78.2	72.6	107.7
	Net blade percentage / Pourcentage net de lames	74.5	70.9	+3.6%
	Leaf weight of single blade (g) / Poids d'une lame (g)	5.41	4.61	117.4
	Thickness of blade / Epaisseur d'une lame (g/100 cm ²)	2.71	2.50	108.4
	Blade size, L x W / Taille de la lame, L x l (cm)	22.2 x 26.5	24.5 x 21.5	
Autumn leaf	Leaf weight on branch / Poids de feuilles par branche (g/m)	263	152	173.0
Feuille d'automne	Leaf weight of single blade / Poids d'une lame (g)	7.81	6.10	128.0
	Thickness of blade / Epaisseur d'une lame (g/100 cm ²)	2.64	2.38	110.9
	Blade size, L x W / Taille de la lame, L x l (cm)	23.4 x 21.3	21.5 x 18.2	

To breed a triploid, an artificial tetraploid should first be obtained. For this purpose, the techniques of radiation and colchicine treatment can be adopted. The tetraploid parent of Dazhonghua was induced by the first method, but the latter one may be more effective. In a study on the induction of tetraploid by means of the colchicine treatment, the authors found that some tetraploids induced from young hybrid seedlings had a higher leaf yield potential than the clonal varieties (Yang *et al.*, 1996).

REFERENCES

- TOJYO I. (1985) Research of polyploidy and its application in *Morus*. JARQ, 18(3), 222-227.
 WATANABE Y. (1985) Effects of ethrel and low temperature on germination of the triploid seeds in *Morus*. Acta Sericologica, 134, 45-53.

- YANG J.-H., YANG X.-H. (1984) Studies on breeding the mulberry by radiation. 3. Induced polyploid mutant and its identification. *Sericult. Sci.*, 10(1), 9-12.
- YANG J.-H., YANG X.-H. (1989) Breeding of artificial triploids in mulberry. *Sericult. Sci.*, 15(2), 65-70.
- YANG J.-H., YANG X.-H. (1991) Research on polyploidy and polyploid breeding of mulberry in China. *Sericologia*, 31(4), 625-630.
- YANG J.-H., YANG X.-H., LUO C.-J. (1996) Leaf yield difference between two types of mulberry tetraploid induced from different parent materials. *In* Collected Papers of International Symposium on Sericultural Sciences, Hangzhou, China, A. 9, p. 9.

LIGNAGE D'UNE VARIÉTÉ DE MURIER ARTIFICIELLE TRIPLOÏDE, LE DAZHONGHUA

YANG J. H., YANG X.-H. & LUO C.-J.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road,
Hangzhou, Zhejiang 310021, Chine.

*Nous avons induit un mutant tétraploïde par irradiation aux rayons gamma de bourgeons d'hiver d'un cultivar diploïde, Shinichinose, avec une dose de 5612 rad. Nous avons procédé au lignage d'une variété artificielle triploïde Dazhonghua (*Morus alba*) obtenue par croisement d'une femelle diploïde du cultivar Dazhongsang (*M. multicaulis*) avec le mâle tétraploïde R 811 (*M. alba*). Dazhonghua présente les caractéristiques typiques des mûriers triploïdes. Elle a un rendement en feuilles élevé, une qualité de feuille assez bonne et présente une résistance modérée à la rouille bactérienne. Sa production en feuilles est supérieure de 15 à 25 % à celle de Heyebai, le cultivar standard. La variété a été approuvée par le Governmental Crop Variety Evaluation Committee et désignée nouvelle variété de mûrier commerciale de développement. Des techniques de lignage sont discutées.*

INTRODUCTION

Comme certains polyploïdes du mûrier, en particulier les triploïdes, présentent de meilleures caractéristiques économiques, les éleveurs de mûrier s'intéressent beaucoup aux recherches qui sont entreprises sur les polyploïdes naturels et leur utilisation, à l'induction artificielle de polyploïdes et à leur lignage. Un certain nombre de bonnes variétés triploïdes artificielles, telles que Shinkenmochi, Aobanezumi, etc., offrant un rendement en feuilles de 10 à 50 % supérieur à celui des variétés standard ont été mises en circulation et sont utilisées dans la production séricicole au Japon. (Tojyo, 1985). Les chercheurs ont fait de grands progrès sur le lignage des polyploïdes en Chine au cours des dernières décennies (Yang et coll., 1991). Depuis le début des années 1980, les auteurs ont étudié les techniques d'induction tétraploïde et ont obtenu des dizaines de tétraploïdes artificiels; en s'appuyant sur ces recherches, ils ont étudié les techniques de lignage triploïde et élevé un certain nombre de triploïdes artificiels (Yang et coll., 1984, 1989). Cet article présente le lignage de la variété artificielle triploïde du mûrier, Dazhonghua.

METHODE DE LIGNAGE

1. Induction des parents tétraploïdes :

Le parent diploïde retenu pour l'induction est la var. Shinichinose (*Morus alba*) provenant du Japon. Au printemps 1980, nous avons irradié les bourgeons de greffes d'un an en phase de renflement avec des rayons gamma puissants à une dose de 5612 rad et à un taux d'exposition de 2200 R/h. En 1981, après l'irradiation, nous avons trouvé un mutant dans la V₁G (génération végétative), qui présentait les caractéristiques morphologiques typiques du mûrier polyploïde. Ses feuilles ont grandi, sa feuille a augmenté en taille d'environ 23 %, en épaisseur d'environ 20 %, sa longueur internodale a diminué, et le nombre et la longueur de ses branches ont légèrement baissé. Il s'agissait d'un tétraploïde, comme l'a montré l'examen chromosomique ($2n = 56$), et nous l'avons nommé R11. Les tests en laboratoire ont montré que la qualité de la feuille de R811 s'était améliorée mais que son rendement en feuilles avait baissé, c'est à dire que la production de cocons à partir de 10 000 larves de vers à soie nourries avec ces feuilles a augmenté de 6 % tandis que la production de feuilles a baissé

de 8 %. Nous n'avons pas pu utiliser le tétraploïde R811 directement pour la production à cause de son rendement inférieur, mais il est bien adapté comme parent pour produire un triploïde.

2. Lignage du triploïde :

Le tétraploïde induit R 811 appartient à *Morus alba* et présente une très bonne qualité de feuille, un taux de bourgeonnement élevé, et un rendement en feuilles et une présence de fleurs mâles légèrement inférieurs. Par conséquent, nous l'avons pris comme parent paternel pour le lignage du triploïde et nous avons sélectionné un parent maternel appartenant à la variété diploïde femelle Dahongsang, une des variétés locales les plus utilisées dans la province appartenant à *Morus multicaulis*, dont les caractéristiques sont un rendement en feuilles élevé, un entrenœud plus court et la résistance au nanisme mais une qualité de feuille légèrement inférieure. L'objectif de cette combinaison était de combiner les bons caractères des parents de manière à obtenir une descendance hybride triploïde au rendement élevé, de bonne qualité et résistante à la maladie par le croisement entre des espèces différentes, par la ploidie et par le recours à des variétés parents géographiquement éloignées.

Au printemps 1985, nous avons réalisé un croisement sexuel artificiel entre Dazhongsang (femelle, 2 x) et R 811 (mâle, 4 x), dont nous avons recueilli les soroses hybrides l'une après l'autre au fur et à mesure qu'elles mûrissaient. Nous les avons conservées dans un réfrigérateur à la température de

2-4° C pendant 7-10 jours pour les garder à l'abri du mildiou et de la rouille et pour augmenter la capacité germinative des graines hybrides. Nous avons planté les graines avec soin et nous en sommes occupées jusqu'à ce qu'elles deviennent des plantules robustes. En hiver, nous avons éliminé les plantules inférieures, et avons transplanté les 50 restantes dans un champ de sélection. L'année suivante, nous avons effectué la sélection des plantules selon les objectifs du lignage. Après avoir sélectionné les plantules, nous avons obtenu 4 plants supérieurs que nous avons nommé 8608, 8610, 8614 et 8615, présentant les caractéristiques morphologiques suivantes : croissance vigoureuse, entrenœud court, feuille de grande taille et aspect de polyploïde. L'observation des chromosomes a permis de les identifier comme triploïdes ($2n = 42$). Nous les avons ensuite greffés de manière à reproduire des lignées d'arbustes de manière végétale. Puis après quatre ans de sélection de lignées d'arbustes en parcelles test disposées en bloc aléatoires, nous les avons comparés à la variété standard, Heyebai. Nous avons constaté que le meilleur était 8610 et nous l'avons nommé Dazhonghua en 1989.

Des essais régionaux et ruraux ont ensuite été effectués. Dazhonghua a été évaluée et a été approuvée par le *Governmental Crop Variety Evaluation Committee* du Zhejiang, à Hangzhou, en Chine en 1996 et a été désignée nouvelle variété de murier commerciale pour la vulgarisation.

3. Illustration de la méthode de lignage :

La méthode de lignage du Dazhonghua est illustrée dans la Fig. 1.

PRINCIPALES CARACTERISTIQUES ECONOMIQUES

Les caractéristiques économiques principales, rendement en feuilles, qualité de feuille, obtenues d'après les résultats d'élevage, et la résistance à la maladie sont présentés respectivement dans les Tableaux I, II et III.

1. Rendement en feuilles :

Dazhonghua présente les caractéristiques suivantes : croissance vigoureuse, entrenœuds de branches courts et feuilles de grande taille, qui contribuent tous à une productivité élevée.

Dans un test de comparaison en blocs effectué après 2-4 ans de croissance, nous avons constaté que la production annuelle de feuilles de Dazhonghua par ha s'élevait à 30 888,9 - 43 044,4 kg, ce qui représente une augmentation de 27,6 - 33,7 % par rapport à la variété standard, Heyebai (Husang No. 32), et que la différence significative est très élevée (significative au seuil de 1 %). Pour les essais provinciaux et régionaux, les rendements en feuilles dans les différentes zones testées étaient tous supérieurs à ceux du témoin. A la troisième année de croissance, la production de feuilles annuelle

moyenne, pour un espacement de plantation de 133×50 cm, était de 34, 703 kg et en augmentation de 15,3 % (différence significative au seuil de 5 %), avec un rendement en feuilles net à la récolte du printemps (culture d'élevage principale en Chine) de 24,7 % supérieur à celui de la variété standard (différence significative au seuil de 5 %). Les essais ruraux montrent que le rendement en feuilles de Dazhonghua peut dépasser celui d'Heyebai de 17,2-35,4 % (Tableau 1).

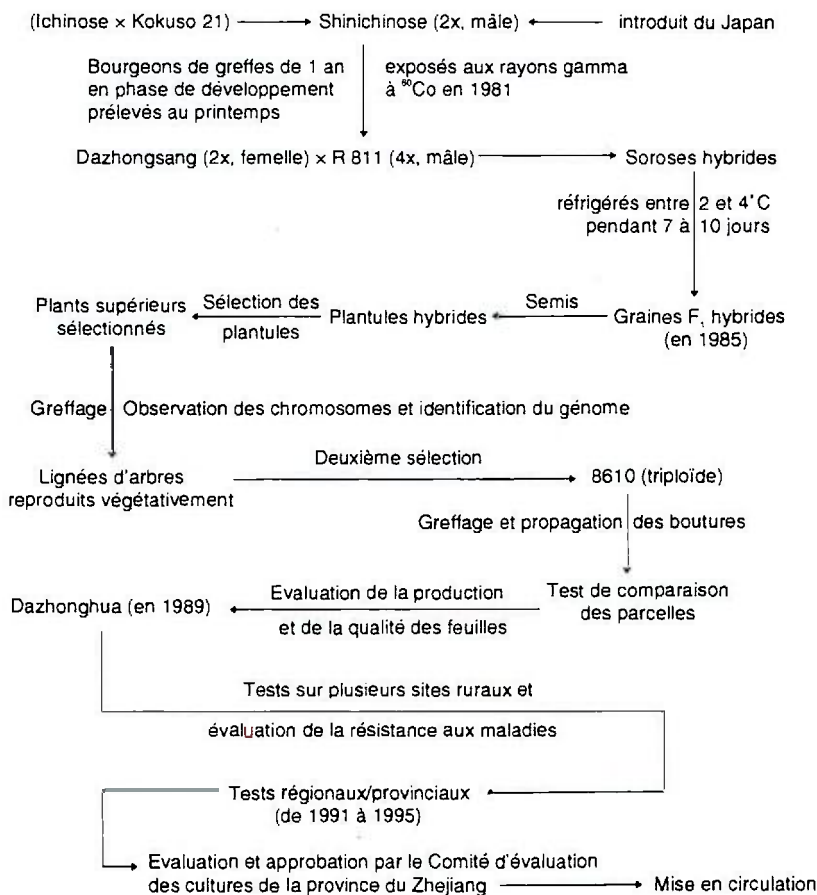


Fig. 1 : Processus de sélection de Dazhonghua.

Nous constatons que Dazhonghua donne une production en feuilles élevée et stable (le coefficient de régression pour la production stable est de 1,07464) dans différentes régions écologiques, particulièrement dans la plaine où se trouve le Zhejiang, la principale région de sériciculture. En général, son rendement est de 15-25 % supérieur à celui d'Heyebai, le principal cultivar mûrier du Zhejiang et de la Chine.

2. Qualité de feuille :

La qualité de feuille de mûrier s'évalue principalement à partir de l'élevage de vers à soie. La qualité de feuille, d'après les résultats d'élevage obtenus quant à la quantité et la qualité de cocons

(Tableau II), est légèrement supérieur mais sans que cela ne représente de différence significative par rapport à Heyebai, dont la qualité de feuille est très bonne.

La production d'enveloppes de cocon par ha (l'index composite pour évaluer une variété de mûrier) de Dazhonghua est supérieure de 20 % à Heyebai à cause de sa production de feuilles plus importante.

3. Résistance :

La rouille bactérienne et le nanisme sont les deux principales maladies du mûrier en Chine. Les résultats, après inoculation artificielle et identification en champ dans des zones très infestées, (Tableau III) montrent que la résistance de Dazhonghua à la rouille bactérienne est similaire à celle d'Heyebai (l'index de maladie de Dazhonghua est seulement légèrement supérieur à celui d'Heyebai), dont la résistance à la maladie de la rouille bactérienne est modérée. Nous n'avons pas trouvé de maladie du nanisme après cinq ans d'identification naturelle dans des champs très infestés.

Nous constatons que Dazhonghua présente certains traits de résistance à des conditions environnementales défavorables telles que la résistance au froid, à la sécheresse et aux terrains détrempés.

CARACTERISTIQUES AGRONOMIQUES ET TECHNIQUES DE CULTURE

1. Caractéristiques bio-morphologiques :

L'arbre Dazhonghua est haut, ses branches sont longues, droites, assez épaisses, en nombre modéré, d'une couleur gris marron, elles ont des entrenœuds courts d'environ 3,3 cm de longueur et font preuve d'une croissance vigoureuse (Tableau IV). Son bourgeon hivernal est grisâtre et en forme de petit triangle ou de perle. Les feuilles larges à quatre lobes sont grandes, modérément épaisses et vert foncé (voir Fig. 2). L'arbre adulte porte très peu de fleurs femelle. Il appartient à *Morus alba* et est triploïde.

2. Caractéristiques agronomiques :

La période de bourgeonnement et de maturation de la feuille au printemps est tardive. Le bourgeonnement du Dazhonghua dans le Hangzhou a lieu de la fin mars au début d'avril, comme pour Heyebai. Le durcissement des feuilles à la fin de l'automne se produit 10 jours plus tard que pour Heyebai. C'est une variété au bourgeonnement et à la maturation tardives, dont les feuilles sont adaptées à l'élevage de larves adultes au printemps. La variété présente une régénération de bourgeons, une capacité de racinement des boutures ligneuses très bonnes (la plupart des cultivars chinois appartenant à *M. multicaulis* ont une capacité de racinement des boutures très faible), et un pourcentage de bourgeonnement et de taux de survie de greffes et de branchages assez élevé (environ 84 %). Elle présente les caractéristiques supérieures typiques des triploïdes.

3. Notions sur les techniques de culture :

Nous recommandons que l'espace entre les plants ne soit pas trop rapproché, l'espace entre les rangs et les plants ne devrait pas être inférieur à 133 et 50 cm respectivement et il convient de faire des coupes médianes et basses pour donner une forme. Un réel report de la récolte des feuilles au printemps peut augmenter la production de feuilles. On peut à la fois utiliser la greffe et la taille pour la multiplication végétative. La variété est adaptée aux régions du Yangtse et des vallées de la Rivière Jaune et à certaines régions froides. Elle a été cultivée dans les principales régions de sériciculture comme les provinces de Zhejiang, Jiangsu, Sichuan, Shandong, Hebei, Xinjiang, etc. Cependant, à cause de sa résistance modérée à la rouille bactérienne, il faut éviter le développement dans les zones sérieusement infestées.

DISCUSSION

La nouvelle lignée de la variété, Dazhonghua, en tant que nouveau triploïde mûrier artificiel du mûrier présente une croissance de pousses, une régénération et un racinement excellents et donne un

rendement très élevé en feuilles de bonne qualité, caractéristiques typiques des triploïdes. Cet exemple et de nombreux autres indiquent que la culture de triploïdes est une des approches efficaces pour la culture de mûrier. Cependant, la sélection des parents est importante pour pratiquer le lignage. Comme pour le lignage conventionnel, la résistance à la maladie dépend en grande partie des parents. Il est nécessaire de réfrigérer les soroses hybrides car la capacité de germination de graines hybrides provenant de combinaisons croisées pour le lignage de triploïdes, en particulier la combinaison de $4x$ (femelle) $\times 2x$ (mâle), est assez faible et peut être améliorée en réfrigérant les soroses (Watanabe, 1985).

Pour cultiver un triploïde, il faut d'abord obtenir un tétraploïde artificiel. A cet effet, on peut adopter les techniques d'irradiation et de traitement à la colchicine. Nous avons induit le parent tétraploïde de Dazhonghua par la première méthode, mais la deuxième est peut-être plus efficace. Dans une étude sur l'induction de tétraploïdes par le traitement à la colchicine, les auteurs ont constaté que certains tétraploïdes induits à partir de plantules de jeunes hybrides ont un potentiel de rendement en feuilles plus élevé que les variétés clonées (Yang et coll., 1996).

TERMINALIA (SECTION: PENTAPTERA) DESCRIPTOR

P.K. SRIVASTAV¹, D.P. SRIVASTAV² & K. THANGAVELU³

1. Regional Tasar Research Station, Mantripokhari, Imphal - 795002, India.
2. Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, India.
3. National Silkworm Seed Project, CSB Complex, B.T.M. Layout, Hosur Road, Madivala, Bangalore - 560 068, India.

*The valuable genetic variability in **Terminalia** species, the food plants of **Antheraea mylitta** D., could not be exploited so far due to the lack of a descriptor. Hence, a **Terminalia** (section: Pentaptera) descriptor has been proposed which is based on studies conducted on 130 accessions of both **Tomentosa** and **Arjuna** complexes from Nadhya Pradesh, Bihar and Orissa. The descriptor includes 125 characters belonging to nine major groups, i.e. phytogeography, gross morphology, reproductive biology, anatomy, cytology, growth/yield attributes, quality parameters, responses to different cultivation places and resistance to various pests and diseases. The proposed descriptor is likely to serve as a ready reckoner for morphological and agronomical descriptions of the genotype/variety serving as a model for quick review of the features of a genotype.*

Keywords: *Terminalia*, variability, genotype, exploration, identification, characterisation, descriptor.

INTRODUCTION

The need for a broad genetic base for any crop plant improvement was first realised by Vavilov in 1926. This realisation prompted naturalists to gather as much knowledge as possible about the existing genetic variability of plants and animals as a prerequisite for any breeding programme. Hence, vast exploration followed by collection, characterisation and cataloguing of genetic material have become essential elements of any genetic improvement programme.

Germplasm has been defined as the collection of plant material, assembled or not assembled, used for crop improvement or related research (Creech and Reitz, 1971). It is one of man's most vulnerable natural resources. It has been the source of genes and genotypes to modify and protect the crops. It also helps a breeder to choose the right material for specific purposes. The effective utilisation of germplasm depends on systematic characterisation and identification of genotypes with specific traits.

Owing to the fast spread of sericulture to different Indian States and tropical countries, the need for a mulberry genotype with specific characters was felt long back and, hence, a mulberry descriptor was prepared (Dandin and Jolly, 1986). Recently, tasar culture has also transformed from an age-old exclusive tribal tradition to an industry of immense economic potentiality and, hence, the need for superior varieties/genotypes of host plants of the tropical tasar silkworm (*Antheraea mylitta* D.) has been felt very much in order to enhance tasar silk production and bring improvement in its quality. Due to the lack of any descriptor for *Terminalia* spp., the primary food plants of *A. mylitta*, the valuable genetic variability could not be exploited in this genus so far. In order to fill up this gap, an attempt is made to formulate a *Terminalia* (section: Pentaptera) descriptor according to Hackett (1979) in the pattern of the mulberry descriptor (Dandin and Jolly, 1986) which may be acceptable to the International Compendium Programme and International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR) as a model to describe different taxa.

Table I. Distinguishing features of taxa in *Terminalia* (section: *Pentaptera*).Tableau I. Caractéristiques de distinction des taxa de *Terminalia* (section: *Pentaptera*).

Species Espèces	Taxa Taxa	Distinguishing features Caractéristiques de distinction
1. <i>Terminalia arjuna</i> A. Species complex Bedd		Fruits comparatively very big (1-2 inches); bark smooth and grey flaking off in large thin layers; wings of the fruit not very broad, their striation curving upwards; leaves glabrous <i>Fruits comparativement très gros (2 à 5 cm); écorce lisse et grise s'écaillant en lamelles de grande taille et fines; ailes du fruit étroites avec des stries incurvées verticales; feuilles glabres</i>
A. Complexe des espèces Bedd		
	1. <i>T. berryi</i> W. & A. syn. <i>T. arjuna</i> var. <i>angustifolia</i>	Leaves narrow, elongate, oblong, suddenly narrowed into petiole with drooping branches; $L/B = > 4$ <i>Feuilles étroites, allongées, oblongues, se rétrécissant subitement dans le pétiole; avec des branches tombantes; $L/I = > 4$</i>
	2. <i>T. glabra</i> W. & A. syn. <i>T. arjuna</i> var. <i>arjuna</i>	Leaves often cordate, obtuse or very shortly acute with horizontal branches; $L/B = < 4$ <i>Feuilles souvent cordées, obtuses ou à pointe courte; branches horizontales; $L/I = < 4$</i>
	3. Small leaf form 3. <i>Forme à petites feuilles</i>	Leaves elliptic to lanceolate; $L/B = 3.0-3.5$ <i>Feuilles elliptiques à lancéolées; $L/I = 3.0$ à 3.05</i>
	4. Putative hybrids closer to <i>T. arjuna</i> 4. <i>Hybrides putatifs plus proches de T. arjuna</i>	Bark grey, slightly rough; leaves broader than those of <i>T. glabra</i> and not perfectly smooth <i>Ecorce grise, légèrement rugueuse; feuilles plus larges que celles de T. glabra pas tout à fait lisses</i>
2. <i>Terminalia tomentosa</i> B. Species complex W. & A.		Bark rough, grey to black, not flaking in thin layers; wings very broad in fruits, striations of wings carried horizontally to the edge; leaves tomentose, rarely glabrous <i>Ecorce rugueuse, grise à noire, pas d'écaillage; ailes des fruits très larges, striées horizontalement vers la bordure; feuilles rarement glabres</i>
B. Complexe des espèces W. & A.		
	1. <i>T. alata</i> syn. <i>tomentosa</i>	Leaves cordate or oblong, suddenly narrowed into the petiole; adult more or less hairy beneath; bark grey to black; young ovary villous; fruits glabrous <i>Feuilles cordées ou allongées, se rétrécissant brusquement dans le pétiole; adulte plus ou moins velu en dessous; écorce grise à noire; ovaire jeune villos; fruits glabres</i>
	i) <i>T. alata</i> var. <i>alata</i> syn. Heyne syn. <i>T. tomentosa alata</i>	Leaves elliptic to oblong or ovate to oblong, 15×8 cm, thinly wooly beneath, found in central India <i>Feuilles elliptique à allongées ou ovales à allongées, 15×9 cm légèrement laineuses en dessous; Inde centrale</i>
	ii) <i>T. alata</i> var. <i>nepalensis</i> (Haines) Fernandez <i>T. tomentosa</i> var.	Leaves oblong to elliptic or lanceolate, $13-30 \times 4-10$ cm, strongly glabrous beneath; distributed in northern India <i>Feuilles allongées à elliptique ou lancéolées, 13 à 30×4 à 10 cm, fortement glabres en dessous; nord de l'Inde</i>

Continued / Suite page suivante

MATERIALS AND METHODS

Terminalia species are predominantly open-pollinated (entomophilous) trees (Srivastava, 1993; Parkinson, 1936). Therefore, sexual recombination, segregation, spontaneous mutations and natural selections have become major sources of variation in the genus. Such inherent variations are sometimes so peculiar in section Pentaptera of the genus *Terminalia*, comprising only *T. arjuna* and *T. tomentosa*, that they warrant a separate specific status. Where intraspecific variations are so drastic, the species are designated as species complexes and in the genus *Terminalia*, *T. tomentosa*, *T. chebula*, *T. bellerica* and *T. citrina* are the burning examples of such species complexes (Hooker, 1878; Parkinson, 1936; Bahadur and Gaur, 1980; Srivastava *et al.*, 1993c).

Hooker described three varieties under *T. tomentosa*, viz. *typica* (*alata*, *crenulata* and *coriacea*). On the other hand, Roth, Wight and Arnott (quoted by Hooker, 1878), Gamble (1915, 1920), Blatter (1929), Parkinson (1936), Bahadur and Gaur (1980) and Srivastava *et al.* (1993c) have treated them as distinct species. Likewise, *T. arjuna* var. *arjuna* and *T. arjuna* var. *angustifolia* described by Hooker (1878) have also been treated as distinct species as *T. glabra* and *T. berry*, respectively (Parkinson, 1936; Srivastava *et al.*, 1993c). The distinguishing features of various taxa of section Pentaptera is given in Table I.

Table I. Continued / Tableau I. Suite

Species Espèces	Taxa Taxa	Distinguishing features Caractéristiques de distinction
	2) <i>T. crenulata</i> Heyne ex Roth syn. <i>T. tomentosa</i> var. <i>crenulata</i>	Leaves narrowed into the petiole, obovate to elliptic; adult nearly glabrous beneath; young ovary and fruits glabrous; common in Western Ghats <i>Feuilles se rétrécissant dans le pétiole, obovales à elliptiques; adultes à peu près glabres en dessous; ovaire jeune et fruits glabres; courant dans les Ghats occidentaux</i>
	a) Big-leaf forms a) <i>A grandes feuilles</i>	Obovate leaves <i>Feuilles obovales</i>
	b) Small-leaf forms b) <i>A petites feuilles</i>	Oblong leaves <i>Feuilles allongées</i>
	c) Khari	Elliptic leaves / <i>Feuilles elliptiques</i>
3. <i>T. coriacea</i> (Roxb.) W. & A. syn. <i>T. tomentosa</i> var. <i>Coriacea</i>		Bark dark-coloured like crocodile skin; leaves like <i>T. alata</i> but beneath with a close hard fulvous tomentum rather than villous; fruits pubescent between wings; common along Eastern Ghats <i>Écorce foncée comme une peau de crocodile; feuilles comme celles de T. alata mais avec un duvet fauve dur et dense plutôt que villos; fruits pubescents entre les ailes; commun le long des Ghats orientaux</i>
4. Putative hybrids closer to <i>T. tomentosa</i>		Bark greyish black, rough and slightly cracked; leaves bigger than those of <i>T. glabra</i> nearly glabrous; veins protruding
4. <i>Hybrides putatifs plus proches de T. tomentosa</i>		<i>Écorce noire grisâtre, rugueuse et craquelée; feuilles plus grandes que celles de T. glabra, presque glabres; nervures saillantes</i>

One hundred and thirty accessions of both *Tomentosa* and *Arjuna* complexes have been under study collected from different States of India, particularly Madhya Pradesh, Orissa and Bihar, at the Central Tasar Research and Training Institute by the authors (Table II). Thirty-five accessions and two controls were raised as half-sib progeny under identical agroclimatic conditions and a uniform package of practices was followed with respect to spacing (4' × 4', 1.20 m × 1.20 m), planting method, manure/fertiliser doses, intercultural operations and harvesting for leaf yield for three years and average values of the observations were recorded.

The descriptor includes nine major groups of characters pertaining to phytogeography, gross morphology, reproductive biology, anatomy, cytology, growth/yield attributes, quality parameters, responses to different cultivation practices and resistance to various pests and diseases. Provision was made from time to time to study all specific characters of fruits, seedlings and mother trees of different genotypes and group them into different clusters (Srivastav and Goel, 1991; Srivastav *et al.*, 1992a, 1992b).

Table II. Species-wise composition of *Terminalia* genotypes studied at the Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, India.

Tableau II. Composition par ordre d'espèces, des génotypes de Terminalia étudiés au Central Tasar Research and Training Institute de Ranchi, Inde.

Years of exploration	Taxa	Number of accessions	Location
Années d'observation	Taxa	N° du type	Site
1987	1. <i>T. glabra</i> syn. var. <i>arjuna</i>	12	Dhamtari, Jagadalpur (M.P.)
	2. Putative hybrids / <i>Hybrides putatifs</i>	10	Sundergarh, Nowrangpur (Orissa) Sundergarh, Nowrangpur (Orissa), Jagadalpur (M.P.)
1989	1. Putative hybrids / <i>Hybrides putatifs</i>	2	Nowrangpur (Orissa)
1990	1. <i>T. glabra</i>	14	Ranchi (Bihar)
	2. <i>T. berryi</i> syn. var. <i>angustifolia</i>	2	Ranchi (Bihar)
	3. <i>T. alata</i> var. <i>alata</i> syn. <i>T. tomentosa</i> var. <i>alata</i>	8	Ranchi (Bihar)
	4. <i>T. coriacea</i> syn. <i>T. tomentosa</i> var. <i>coriacea</i>	3	Ranchi (Bihar)
	5. <i>T. crenulata</i> syn. <i>T. tomentosa</i> var. <i>crenulata</i>	1	Ranchi (Bihar)
	6. Putative hybrids / <i>Hybrides putatifs</i>	11	Ranchi (Bihar)
1993	1. <i>T. glabra</i>	18	Ranchi (Bihar), Balaghat, Bilaspur, Jagadalpur (M.P.)
	2. <i>T. berryi</i>	4	Ranchi (Bihar), Balaghat (M.P.)
	3. <i>T. alata</i> var. <i>alata</i>	8	Jagadalpur, Bilaspur (M.P.)
	4. <i>T. alata</i> var. <i>nepalensis</i>	2	Ranchi (Bihar)
	5. <i>T. coriacea</i>	1	Balaghat (M.P.)
	6. <i>T. crenulata</i>	22	Ranchi (Bihar), Bilaspur, Raigarh (M.P.)
	7. Putative hybrids / <i>Hybrides putatifs</i>	12	Ranchi (Bihar), Balaghat, Jagadalpur, Bilaspur (M.P.)

RESULTS AND DISCUSSION

The descriptor proposed is based on 125 characters of 9 major groups as presented in Table III. The extent of variability observed in each character is taken as a base for describing this particular character. The mulberry descriptor (Dandin and Jolly, 1986) was used as a base for preparing the descriptor of *Terminalia* (section: Pentaptera) with certain modifications as applicable in the case of

Table III. *Terminalia* (section: Pentaptera) descriptor.

Tableau III. Fiche signalétique pour *Terminalia* (section : pentaptère).

I. Phytogeographical information / Informations phytogéographiques	
1. Botanical names / <i>Dénominations botaniques</i>	:
2. Common/variatal name / <i>Nom vulgaire/variétal</i>	:
3. Origin	: Indigenous/exotic (country/state/province)
3. <i>Origine</i>	: <i>Indigène/exotique</i> (pays/état/province)
4. Wild or cultivated / <i>Sauvage ou cultivé</i>	:
5. If cultivated	:
(a) Mode of origin	: introduction/selection/hybrid/mutant/polyploid
(b) Areas of cultivation	: tropical/subtropical
5. <i>Si cultivé</i>	:
(a) Mode d'origine	: introduction/sélection/hybride/mutant/polyploïde
(b) Zones de cultures	: tropicales/subtropicales
II. Morphological characters / Caractères morphologiques	
1. Habit / <i>Habitus</i>	: tree/bush / <i>arbre/arbuste</i>
2. Branching nature	: erect/spreading/drooping
2. <i>Nature des branches</i>	: <i>droites/rampantes/tombantes</i>
3. Colour of the stem bark	:
3. <i>Couleur de l'écorce de la tige</i>	:
4. Bark / <i>Ecorce</i>	:
(a) Nature	: smooth/rough/cracked
(b) Shape of flakes	: irregular/square
(c) Thickness	:
(a) <i>Nature</i>	: <i>lisse/rugueuse/craquelée</i>
(b) <i>Forme des écailles</i>	: <i>irrégulière/carrée</i>
(c) <i>Epaisseur</i>	:
5. Leaf / <i>Feuille</i>	:
(a) Internodal distance in a branch	: top (1-7 leaf) middle (8-15 leaf) base (below 15th leaf)
(b) Phyllotaxy	: alternate/opposite/subopposite/decussate
(c) Nature	: uniform/heterophyllous
(d) Petiole length	:
(e) Lamina	:
(i) Shape	: oblong/elliptic/obovate/obcordate/lanceolate
(ii) Base	: obcordate/lanceolate
(iii) Apex	: acute/obtuse/notched
(iv) Margin	: entire/wavy/dentate/serrated
(v) Surface	: smooth/rough
(vi) Texture	: thick (leathery)/thin (papery)
(vii) Hairiness	: glabrescent/tomentose

Continued / *Suite page suivante*

Table III. Continued / Tableau III. Suite.

(viii) Venation	:	
(ix) Average leaf size	:	length (cm)/breadth (cm)/area (cm ²)
(x) Thickness (μ)	:	
(a) Distance internodale sur une branche	:	sommet (feuilles 1 à 7) milieu (feuilles 8 à 15) base (en dessous de la feuille 15)
(b) Phyllotaxie	:	alterne/opposée/subopposée/décussée
(c) Nature	:	uniforme/hétérophylle
(d) Longueur du pétiole	:	
(e) Limbe	:	
(i) Forme	:	allongée/elliptique/obovale/obcordée/lancéolée
(ii) Base	:	obcordée
(iii) Sommet	:	pointu/obtus/dentelé
(iv) Bordure	:	entière/ondulée/dentelée/fortement dentée
(v) Surface	:	lisse/rugueuse
(vi) Texture	:	épaisse (coriace)/fine (tendre)
(vii) Pubescence	:	glabre/laineux
(viii) Nervation	:	
(ix) Taille moyenne de la feuille	:	longueur (cm)/largeur (cm)/surface (cm ²)
(x) Epaisseur (μ)	:	
III. Reproductive characters / Caractères de reproduction		
1. Flowering nature	:	regular/occasional
1. Nature de la floraison	:	régulière/occasionnelle
2. Frequency	:	heavy/shy
2. Fréquence	:	forte/faible
3. Inflorescence	:	
(a) No. of spikes (ranges)	:	
(b) Maximum length of spike	:	
(c) Minimum length of spike	:	
(e) Maximum no. of buds in spike	:	
(f) Flower arrangement	:	
3. Inflorescence	:	
(a) Nombre de hampes (fourchettes)	:	
(b) Longueur maximale d'une hampe	:	
(c) Longueur minimale d'une hampe	:	
(d) Nombre maximal de bourgeons par hampe	:	
(e) Nombre minimal de bourgeons par hampe	:	
(f) Disposition des fleurs	:	
4. Flowers / Fleurs	:	
(a) No. of sepals	:	4/5/6/7/8/9/10/11/12
(b) No. of stamens	:	8/10/12/14/16/18/20/22/24
(c) Nature of stamens	:	included/inserted
(d) Nature of stigma	:	hairy/smooth
(e) Length of style	:	
(a) Nombre de sépale	:	4/5/6/7/8/9/10/11/12
(b) Nombre d'étamines	:	8/10/12/14/16/18/20/22/24
(c) Nature des étamines	:	incluse/insérée
(d) Nature des stigmates	:	velue/lisse
(e) Longueur du style	:	
5. Pollen grains / Graines de pollen	:	
(a) Shape	:	round/angular
(b) Size (μ) of diameter	:	

Continued / Suite page suivante

Table III. Continued / *Tableau III. Suite.*

(c)	Fertility %	:	
(d)	Viability %	:	
(a)	<i>Forme</i>	:	ronde/anguleuse
(b)	<i>Diamètre (μ)</i>	:	
(c)	<i>Fertilité (%)</i>	:	
(d)	<i>Viabilité (%)</i>	:	
6.	Fruit	:	
(a)	No. of wings	:	4/5/6/7/8/9/10/11/12
(b)	Length of fruits	:	
(c)	Breadth of fruits	:	
(d)	Breadth of wings	:	
(e)	Striations in wings	:	horizontal/curving upwards
(f)	Average weight of seeds (g)	:	
(g)	Germination %	:	
(h)	Viability (duration)	:	
(i)	Type	:	beaked (joined wings on top)/unbeaked (free wings on top)
(a)	<i>Nombre d'ailes</i>	:	4/5/6/7/8/9/10/11/12
(b)	<i>Longueur des fruits</i>	:	
(c)	<i>Largeur des fruits</i>	:	
(d)	<i>Largeur des ailes</i>	:	
(e)	<i>Striation des ailes</i>	:	horizontale/incurvée vers le haut
(f)	<i>Poids moyen des graines (g)</i>	:	
(g)	<i>Germination (%)</i>	:	
(h)	<i>Viabilité (duree)</i>	:	
(i)	<i>Type</i>	:	rostré (ailes rattachées à l'extrémité)/non rostré (ailes indépendantes à l'extrémité)
IV. Anatomical features / <i>Caractéristiques anatomiques</i>			
1.	Stomata / <i>Stomates</i>	:	
(a)	Distribution	:	abaxial/adaxial
(b)	Type	:	
(c)	Position	:	
(d)	Frequency/unit area	:	
(e)	Size (μ)	:	
(f)	Guard cell size (μ)	:	
(g)	No. of chlorophylls in guard cells	:	
(h)	Stomatal index	:	
(a)	<i>Répartition</i>	:	inférieure/supérieure
(b)	<i>Type</i>	:	
(c)	<i>Position</i>	:	
(d)	<i>Fréquence par surface unitaire</i>	:	
(e)	<i>Taille (μ)</i>	:	
(f)	<i>Taille des ostioles</i>	:	
(h)	<i>Indice des stomates</i>	:	
2.	No. of palisade layers	:	
2.	Nombre de couches palissadiques	:	
3.	Ratio of palisade/spongy layers by thickness (μ)	:	
3.	Rapport des couches palissadiques/spongieuses en épaisseur (μ)	:	
4.	Thickness of cuticle (μ) / <i>Épaisseur de la cuticule (μ)</i>	:	
5.	Hairs / <i>Poils</i>	:	
(a)	Presence / <i>Présence</i>	:	present/absent / présents/absents

Continued / *Suite page suivante*

Table III. Continued / *Tableau III. Suite.*

	(b) Frequency (no./cm ²)	:	
	(b) Fréquence (nombre/cm ²)	:	
	(c) Width / Largeur	:	
	(d) Length / Longueur	:	
6.	Special features, if any	:	
6.	Caractéristiques particulières éventuelles	:	
V. Cytological details / Détails cytologiques			
1.	Somatic / Somatiques	:	
	(a) Somatic	:	
	(b) Ploidy level	:	
	(c) Karyotypic formula	:	
	(d) Total chromatin length	:	
	(e) No. of satellite chromosomes	:	
	(f) No. of large chromosome pairs	:	
	(g) No. of medium-sized chromosome pairs	:	
	(a) Somatiques	:	
	(b) Degré de ploidie	:	
	(c) Formule du caryotype	:	
	(f) Nombre de paires de chromosomes de grande taille	:	
	(g) Nombre de paires de chromosomes de taille moyenne	:	
2.	Meiotic / Méiotiques	:	
	(a) Meiotic behaviour	:	regular/irregular
	(b) Chromosome configuration	:	
	(c) Meiotic abnormalities	:	
	(d) Distribution	:	disjunctional/non-disjunctional
	(a) Comportement de la méiose	:	régulier/irrégulier
	(b) Configuration chromosomique	:	
	(c) Anomalies méiotiques	:	
	(d) Répartition	:	disjonctionnelle/non disjonctionnelle
3.	Special features, if any	:	
3.	Caractéristiques particulières éventuelles	:	
VI. Propagation / Multiplication			
1.	Sprouting in cuttings/air layers	:	
	(a) Quality	:	fast/medium/slow
	(b) Percentage on 30th day	:	
1.	Bourgeonnement dans les boutures/couches aériennes	:	
	(a) Qualité	:	rapide/moyen/lente
	(b) Pourcentage au 30e jour	:	
2.	Rooting in air layers/cuttings	:	
	(a) Nature	:	fast/medium/slow
	(b) Percentage on 60th day	:	
2.	Enracinement dans les couches aériennes/boutures	:	
	(a) Nature	:	rapide/moyenne/lente
	(b) Pourcentage au 60e jour	:	
3.	Sprouting in stumps/pollarded trunks	:	
	(a) Nature	:	fast/medium/slow
	(b) Percentage on 30th day or 45th day after pollarding/transplantation	:	

Continued / Suite page suivante

Table III. Continued / *Tableau III. Suite.*

- | | | |
|-----|---|------------------------|
| 3. | <i>Bourgeonnement dans les souches/troncs étêtés</i> | |
| (a) | <i>Nature</i> | : rapide/moyenne/lente |
| (b) | <i>Pourcentage au 30e ou au 45e jour après étêtage/ transplantation</i> | : |

VII. Growth and yield parameters in seedlings/air layers/cuttings**VII. Paramètres de croissance et de rendement des plantules/couches aériennes/boutures**

- | | | |
|--------|---|--|
| 1. | <i>Quantitative / Quantitatifs</i> | |
| (a) | <i>Nature</i> | : slow/medium/fast |
| (b) | <i>Rate/90 days (cm)</i> | |
| (i) | <i>Height of the plant</i> | : |
| (ii) | <i>No. of primary branches</i> | : |
| (iii) | <i>Length of primary branches</i> | : |
| (iv) | <i>No. of secondary branches</i> | : |
| (v) | <i>Length of secondary branches</i> | : |
| (vi) | <i>Total shoot length (cm)</i> | : |
| (vii) | <i>Leaf no./meter</i> | : |
| (viii) | <i>Weight of 100 fresh leaves</i> | : |
| (c) | <i>Lamina/petiole ratio</i> | : |
| (i) | <i>by length</i> | : |
| (ii) | <i>by weight</i> | : |
| (d) | <i>Leaf/shoot ratio by weight</i> | : |
| (e) | <i>Total leaf yield/plant</i> | : |
| (f) | <i>Calculated yield/plant</i> | : |
| (a) | <i>Nature</i> | : lente/moyen/rapide |
| (b) | <i>Taux/90 jours (cm)</i> | |
| (i) | <i>Hauteur du plant</i> | : |
| (ii) | <i>Nombre de ramifications primaires</i> | : |
| (iii) | <i>Longueur des ramifications primaires</i> | : |
| (iv) | <i>Nombre de branches secondaires</i> | : |
| (v) | <i>Longueur des branches secondaires</i> | : |
| (vi) | <i>Longueur totale des pousses (cm)</i> | : |
| (viii) | <i>Poids de 100 feuilles fraîches</i> | : |
| (c) | <i>Rapport limbe/pétiole</i> | |
| (i) | <i>en longueur</i> | : |
| (ii) | <i>en poids</i> | : |
| (d) | <i>Rapport feuilles/pousses en poids</i> | : |
| (e) | <i>Rendement total en feuilles/plant</i> | : |
| (f) | <i>Rendement calculé/plant</i> | : |
| 2. | <i>Qualitative / Qualitatifs</i> | |
| (a) | <i>Moisture % / Eau (%)</i> | : (<) top / sommet (1-7)
middle / milieu (8-15)
base (below 15 / en dessous de 15) |
| (b) | <i>Average / Moyenne</i> | : |
| (c) | <i>Chemical contents / Composition chimique</i> | |
| (i) | <i>Non reducing sugars (%)</i> | : |
| (ii) | <i>Reducing sugars (%)</i> | : |
| (iii) | <i>Total sugar %</i> | : |
| (iv) | <i>Crude protein %</i> | : |
| (v) | <i>Mineral %</i> | : |
| (vi) | <i>Fibre %</i> | : |
| (i) | <i>Sucres non réducteurs (%)</i> | : |
| (ii) | <i>Sucres réducteurs (%)</i> | : |

Continued / *Suite page suivante*

Table III. Continued / Tableau III. Suite.

	(iii) Sucres totaux (%)	:	
	(iv) Protéines brutes (%)	:	
	(v) Minéraux (%)	:	
	(vi) Fibres (%)	:	
(d)	Palatability	:	superior/desirable/inferior
(d)	Sapidité	:	supérieure/moyenne/inférieure
(e)	Leaf/cocoon ratio by feeding trial of 1 ha	:	
(e)	Rapport feuilles/cocons	:	
	(test de nourrissage pour 1 ha)	:	
VIII.	Response to different physiological conditions of half-sib seedlings		
VIII.	Réponse des plantules semi-apparentées à différentes conditions physiologiques		
1.	Resistance to drought	:	resistant/tolerant/susceptible
1.	Résistance à la sécheresse	:	forte/moyenne/faible
2.	Resistance to salinity	:	resistant/tolerant/susceptible
2.	Résistance à la salinité	:	forte/moyenne/faible
3.	Response to repeated pruning	:	good/medium/poor
3.	Réponse aux tailles répétées	:	bonne/moyenne/médiocre
IX.	Resistance to diseases and pests / Résistances aux maladies et aux parasites		
1.	Diseases / Maladies		
(a)	Fungal leaf spot	:	resistant/tolerant/susceptible
(a)	Tache foliaire fongique	:	résistant/tolérant/sensible
	(<i>Pestalotiopsis palmarum</i>)		
(b)	Powdery mildew (<i>Phyllactinia terminali</i>)	:	resistant/tolerant/susceptible
(b)	Oïdium (<i>Phyllactinia terminali</i>)	:	résistant/tolérant/sensible
(c)	Leaf rust	:	resistant/tolerant/susceptible
(c)	Rouille foliaire	:	résistant/tolérant/sensible
(d)	Leaf curl	:	resistant/tolerant/susceptible
(d)	Enroulement foliaire	:	résistant/tolérant/sensible
(e)	Root rot	:	resistant/tolerant/susceptible
(e)	Pourrissement des racines	:	résistant/tolérant/sensible
(f)	Any other diseases	:	resistant/tolerant/susceptible
(f)	Autres maladies	:	résistant/tolérant/sensible
2.	Pests / Parasites		
(a)	Vapourer tussock moth	:	resistant/tolerant/susceptible
(a)	Orgyie	:	résistant/tolérant/sensible
(b)	Gall (<i>Trioza fletcheri</i> minor)	:	resistant/tolerant/susceptible
(b)	Cécidie (<i>Trioza fletcheri</i> minor)	:	résistant/tolérant/sensible
(c)	Stem borer (<i>Psiloptera fastuosa</i>)	:	resistant/tolerant/susceptible
(c)	Térébrant de la tige (<i>Psiloptera fastuosa</i>)	:	résistant/tolérant/sensible
(d)	Soil insects	:	resistant/tolerant/susceptible
(d)	Insectes du sol	:	résistant/tolérant/sensible
	(<i>Triclistona pices</i>)	:	
	(LL) <i>Crimmorthinus nebulosus</i>	:	
	(LLL) <i>Mylocerus</i> spp.	:	
(e)	May-June beetle (<i>Anomala blanchardi</i>)	:	resistant/tolerant/susceptible
(e)	Hanneton (<i>Anomala blanchardi</i>)	:	résistant/tolérant/sensible
(f)	Any other pests	:	resistant/tolerant/susceptible
(f)	Autres parasites	:	résistant/tolérant/sensible

Terminalia. Morphological characters such as leaf shape, size, texture, bark, flower and fruit characteristics were also taken into account in detail for maximum utilisation of these characters in classification of *Terminalia* (section: Pentaptera) species. The important parameters suggested by Srivastav *et al.* (1993a), Siddiqui *et al.* (1993) and Srivastava *et al.* (1993a, 1991) for assessing growth/yield attributes were also considered for study. Responses of the half-sib progeny of different genotypes to different agronomical practices were taken into consideration for suggesting a suitable package deal for each genotype because clonal propagation is still not commercialised. The major diseases and pests affecting *Terminalia* species were also included to assess the resistance to them.

The proposed descriptor is likely to serve as a ready reckoner for morphological and agronomical description of the genotype/variety besides serving as a model for quick review of the features of a genotype. The descriptor is also likely to help plant breeders as a source of information regarding existing genetic variability, growth requirements and special genes for future breeding programmes on *Terminalia* (section: Pentaptera) species.

REFERENCES

- BAHADUR K.N., GAUR R.C. (1980) A note on the *Terminalia tomentosa* complex. Indian J. For., 3(4), 367-369.
- BLATTER E. (1929) Indian species *Terminalia* Linn. JIBS, 8, 245-262.
- CREECH J.L., REITZ L.P. (1971) Plant germplasm now and for tomorrow. Adv. Agron., 23, 1-49.
- DANDIN S.B., JOLLY M.S. (1986) Mulberry descriptor. Sericologia, 26(4), 465-473.
- GAMBLE J.S. (1915) Flora of Madras Presidency.
- GAMBLE J.S. (1920) Kew Bulletin, London, p. 51.
- HACKETT C. (1979) A rapidly searchable compendium of information on cultivated fruit, vegetable, spice and nut species. Chron. Hort., 19(2), 31.
- HOOKE J.D. (1878) The Flora of British India II. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehradun.
- PARKINSON C.E. (1936) Indian *Terminalias* of section Pentaptera. Indian For. Rec., 1(1), 1-26.
- SIDDIQUI A.A., SRIVASTAV P.K., BECK S., BRAHMACHARI, B.N. and THANGAVELU (1993) Genotypic variability and correlation studies of leaf characters in *Terminalia* species. Indian J. Genet., 53 (1) : 85-90.
- SRIVASTAV P.K., GOEL A.K. (1991) Fruit diversity in *Terminalia arjuna* Bedd. and *T. tomentosa* W. & A. J. Cytol. Genet., 26, 141-149.
- SRIVASTAV P.K., SIDDIQUI A.A., GOEL A.K. (1992a) Genetic diversity in half-sib seedlings of *Terminalia arjuna* Bedd. Sericologia, 32(3), 469-475.
- SRIVASTAVA D.P., SRIVASTAV P.K., GOEL A.K. and THANGAVELU K. (1993c). Genetic variability in *Terminalia arjuna* Bedd., Indian J. Forestry., 16 (3) : 223-225.
- SRIVASTAV P.K. (1993) Pollination mechanisms in genus *Terminalia* Linn. Indian For., 119(2), 147-150.
- SRIVASTAV P.K., SIDDIQUI A.A., GOEL A.K. (1993a) Genetic variability in half-sib seedlings of *Terminalia arjuna*. Indian For., 119(1), 53-58.
- SRIVASTAV P.K., THANGAVELU K., KHARE R., SINGH R.N. (1997) A treatise on *Terminalias*. Central Silk Board, Bangalore (in press).
- SRIVASTAVA D.P., SRIVASTAV P.K., GOEL A.K., THANGAVELU K. (1993a) Correlation and path coefficient studies in *Terminalia arjuna* Bedd. Ann. For., 1(2), 178-181.
- SRIVASTAVA D.P., SRIVASTAV P.K., GOEL A.K., THANGAVELU K. (1993b) Genetic variability in *Terminalia arjuna* Bedd. Indian J. For., 16(3), 223-225.

DESCRIPTEUR DU GENRE *TERMINALIA* (BRANCHE: PENTAPTERA)

P.K. SRIVASTAV¹, D.P. SRIVASTAV², THANGAVELU³

1. Regional Tasar Research Station, Mantripokhari, Imphal - 795002, Inde.

2. Central Tasar Research and training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, Inde.

3. National Silkworm Seed Project, CSB Complex, B.T.M. layout, Hosur Road, Madivala, Bangalore - 560 068, Inde.

La variabilité génétique des espèces de *Terminalia*, les plantes nutritives d'*Antheraea mylitta* D., n'a pas pu être exploitée jusqu'à présent à cause du manque d'un descripteur. Par conséquent, nous proposons un descripteur *Terminalia* (branche : Pentaptera) qui s'appuie sur les études entreprises sur 130 exemplaires dérivés de *Tormentosa* et *Arjuna* provenant du Nadhya Pradesh, du Bihar et de l'Orissa. Le descripteur comprend 125 caractéristiques appartenant aux neuf groupes principaux suivants : phytogéographie, morphologie, biologie de la reproduction, anatomie, cytologie, caractères de croissance/rendement, paramètres de qualité, réponses à différents lieux de culture et résistance à des maladies et des insectes variés. Le descripteur proposé permettra sûrement de servir de clé pour les descriptions agonomiques et morphologiques de génotypes/variétés, servant de modèle pour un passage en revue rapide des caractéristiques d'un génotype.

INTRODUCTION

Vavilov a le premier pris conscience en 1926 du besoin d'une base génétique large pour l'amélioration de n'importe quelle plante cultivée. Cette constatation a poussé les naturalistes à rassembler le plus de connaissances possibles sur la variabilité génétique existante des plantes et des animaux comme condition préalable à tout programme d'élevage. En conséquence, une vaste exploration, suivie de collection, de caractérisation et de catalogage du matériel génétique sont devenus les éléments essentiels de tout programme d'amélioration génétique.

Le germoplasme a été défini comme la collection de matériel végétal, rassemblée ou non, utilisée pour l'amélioration des plantes ou la recherche associée (Creech et Reitz, 1971). C'est l'une des ressources naturelles les plus vulnérables de l'homme. C'est la source des gènes et des génotypes pour la modification et la protection des cultures. Il aide aussi le sélectionneur à choisir le bon matériel pour des desseins spécifiques. L'utilisation efficace du germoplasme dépend de la caractérisation systématique et de l'identification de génotypes avec des traits spécifiques.

Le besoin pour un génotype de mûrier avec des caractères spécifiques s'est fait ressentir depuis longtemps, en raison du développement rapide de la sériciculture dans différents états indiens et dans les pays tropicaux et, par conséquent, un descripteur du mûrier a été préparé (Dandin et Jolly, 1986). Récemment, la culture du tasar a aussi transformé une tradition tribale, exclusive et séculaire en une industrie au potentiel économique très important et par conséquent, le besoin pour des variétés/des génotypes supérieurs de plantes hôtes du ver à soie tropical tasar (*Antheraea mylitta* D.) dans le but d'augmenter la production de soie tasar et d'améliorer sa qualité s'est fait profondément ressentir. La précieuse variabilité génétique de *Terminalia* spp., les plantes nutritives primaires de *A. mylitta* ne pouvait pas être exploitée jusqu'à présent à cause de l'absence de descripteur pour ce genre. En vue de combler ce vide, un essai a été fait pour formuler un descripteur *Terminalia* (section: Pentaptera) d'après Hackett (1979), sur le modèle de descripteur du mûrier (Dandin et Jolly, 1986), qui puisse être acceptable par le *International Compendium Programme and International Board of Plant Genetic Resources* (IBPGR) comme modèle pour décrire différents taxa.

MATERIELS ET METHODES

Les espèces de *Terminalia* sont principalement des arbres pollinisés par les insectes (entomophiles) (Srivastav, 1993 ; Parkinson, 1936). Par conséquent, les sources majeures de variations génétiques viennent de la recombinaison sexuelle, de la ségrégation, de mutations spontanées et de sélections naturelles. Des variations aussi inhérentes sont parfois si particulières pour la branche Pentaptera du genre *Terminalia*, qui comprend seulement *T. arjuna* et *T. tomentosa*, qu'elles exigent un statut spécifique séparé. Quand les variations intraspécifiques sont aussi importantes, les espèces sont désignées dérivés d'espèces et *T. tomentosa*, *T. chebula*, *T. bellerica* et *T. citrina* sont, pour le genre *Terminalia*, des exemples frappants de tels dérivés d'espèces (Hooker, 1878 ; Parkinson, 1936 ; Bahadur et Gaur, 1980 ; Srivastava et coll., 1993c).

Hooker a décrit trois variétés sous *T. tomentosa*, viz. *typica* (*alata*, *crenulata* et *coriacea*). En revanche, Roth, Wight et Arnott (cités par Hooker, 1878), Gamble (1915, 1920), Blatter (1929), Parkinson (1936), Bahadur et Gaur (1980) et Srivastava et coll., (1993c) les ont traitées comme des espèces distinctes. De même, *T. arjuna* var. *arjuna* et *T. arjuna* var. *angustifolia* décrites par Hooker (1878) ont aussi été traitées comme des espèces distinctes sous les noms respectivement de *T. glabra* et *T. berry*, (Parkinson, 1936; Srivastava et coll., (1993c). Les caractères distinctifs de plusieurs taxa de la branche *Pentaptera* sont indiqués dans le Tableau 1.

Cent trente exemplaires dérivés de *Tomentosa* et d'*Arjuna* provenant de différents états d'Inde, en particulier du Madhya Pradesh, de l'Orissa et du Bihar, ont été étudiées au Central Tasar Research and Training Institute par les auteurs (Tableau II). Trente cinq descendants demi-frères et deux témoins ont été élevés sous des conditions agroclimatiques identiques et un ensemble uniforme de pratiques a été suivi en ce qui concerne l'espacement (4' x 4', 1,20m x 1,20m), la méthode de plantation, les doses d'engrais/fertilisant, les opérations interculturelles et la récolte de la production en feuilles pendant trois ans et les valeurs moyennes des observations ont été enregistrées.

Le descripteur comprend neuf groupes principaux de caractères appartenant à la phytogéographie, la morphologie, la biologie reproductive, l'anatomie, la cytologie, les attributs de croissance/rendement, les paramètres de qualité, les réponses aux différentes pratiques de culture et la résistance à des insectes et des maladies variées. Nous avons pris des dispositions de temps en temps pour étudier tous les caractères spécifiques des fruits, des jeunes plants et des arbres mères de génotypes différents pour les grouper en ensembles différents (Srivastava et Goel, 1991 ; Srivastav et coll., 1992a, 1992b).

RESULTATS ET DISCUSSION

Le descripteur proposé se base sur 125 caractéristiques dans 9 groupes principaux (se reporter au Tableau III). L'étendue de la variabilité observée pour chaque caractéristique est prise comme base pour décrire cette caractéristique particulière. Le descripteur du mûrier (Dandin et Jolly, 1986) a été pris comme modèle pour préparer le descripteur de *Terminalia* (branche : Pentaptera) avec certaines modifications telles applicables au cas de *Terminalia*.

Les caractéristiques morphologiques telles que la forme de la feuille, la taille, la texture, l'écorce, les caractéristiques de la fleur et du fruit ont aussi été prises en compte pour une utilisation maximale de ces caractéristiques pour la classification des espèces *Terminalia*. Nous prenons aussi en considération dans cette étude les paramètres importants suggérés par Srivastav et coll. (1993a, Siddiqui et coll., (1993) et Srivastava et coll., (1993a, 1993b) pour évaluer les composants de la croissance/rendement. Les réponses des descendants demi-frères de différents génotypes aux différentes pratiques agronomiques sont prises en compte pour suggérer un ensemble adapté pour chaque génotype car la multiplication des clones n'est pas encore commercialisée. Nous incluons aussi les principaux insectes et maladies touchant *Terminalia* pour évaluer la manière dont ils leur résistent.

Le descripteur proposé pourra probablement servir de grille d'évaluation pour la description morphologique et agronomique du génotype/variété et de modèle pour un passage en revue rapide des caractéristiques d'un génotype. Le descripteur pourra aussi sûrement aider les sélectionneurs de plantes comme source d'information concernant la variabilité génétique existante, les exigences de croissance et les gènes spéciaux pour les futurs programmes de sélection sur les espèces *Terminalia* (branche : Pentaptera).

EVALUATION OF A WINTER PRUNING SCHEDULE FOR MULBERRY GARDENS IN SOUTH BIHAR

J. JAYASWAL*¹, S.K. GANGWAR*², B.D. SINGH, A.K. ROY, P.S. SINHA, M.K. SINGH
& P.K. MISHRA

Regional Sericultural Research Station, Vinod Villa, West End Park, Hehal, Ranchi - 834 005,
Bihar, India.

In Chotanagpur, the rearing capacity of established mulberry gardens during the spring commercial crop is comparatively low. It is basically observed to be due to poor availability of leaf during this period. The main reason, among other things, is identified as the single pruning schedule during June every year which gives better leaf yield during August, but the output of leaves gradually gets slowed down as time passes towards the spring of the next year. To improve the leaf production during the spring commercial crop, a series of pruning schedules were evaluated and it was found that bottom and/or middle pruning during the third week of November is the best in terms of leaf yield, leaf moisture and other growth parameters like shoot length and number of branches, number of leaves and photosynthetic foliar area (PFA). Top clipping (at 120 cm or 150 cm height) during the second week of January also improved the leaf yield and quality over the control but it was significantly inferior to that under the November pruning schedules.

Keywords: Mulberry, *Morus alba* L., pruning, leaf yield, South Bihar.

INTRODUCTION

Mulberry sericulture in South Bihar is mainly a rainfed venture with a single pruning schedule in vogue which is carried out during the third week of June (depending upon the onset of the monsoon). A long gap between the June pruning and subsequent spring commercial crop gradually slows down plant growth and leaf expansion by the March of following year, which ultimately limits the bearing capacity of mulberry to support a higher rearing capacity. Low temperature and depleted soil moisture during winter months aggravate this situation by retarding growth of the plants.

Pruning is well known to enhance the leaf yield and quality in mulberry plants. Besides, it helps in adjusting the production period in terms of acceptability of forage by silkworms and giving plants convenient shape and size (Ullal and Narasimhanna, 1987; Rangaswami *et al.*, 1976). A report is available on improvement of mulberry leaf yield and quality during spring by resorting to winter pruning at high altitude in Jammu and Kashmir (Kaul and Bhagat, 1991). But there is no systematic study carried out on the winter pruning of mulberry in the rainfed belt of the South Bihar plateau (200 to 350 m altitude), although it is an established fact that leaf production in this zone is very low during the spring commercial crop, as reflected in the low silkworm consumption. It was, therefore, decided to evolve a proper schedule including pruning height and the time so as to advocate a suitable technique for augmenting mulberry leaf production during the spring (March) crop for the farmers of South Bihar.

* Present addresses:

1. National Silkworm Seed Project, Central Silk Board, B.T.M. Layout, Madivala, Bangalore - 560 068, India.
2. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, Dist. Murshidabad, West Bengal, India.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in the existing mulberry plantation of the Regional Sericultural Research Station, Ranchi, for three years in a succession during 1992-1994. The first year experiment was designed as a pilot study with nine treatments including bottom pruning (15 cm cut) during the first week of November, third week of November, first week of December and first week of January; middle pruning (90 cm cut) during the first week of November and third week of November; top clipping at 120 cm and 150 cm height during the second week of January and a parallel control (no pruning during winter months). The experiment was laid out in a randomised block design, keeping three blocks (replications) for each treatment. Uniform cultural and other agronomical practices for rainfed mulberry were followed except that November pruning was given very low irrigation twice.

Data on plant height, number of branches, number of leaves, leaf length and width were recorded during the third week of March when the silkworm in the spring commercial crop are expected to attain the fifth instar. The leaf area was calculated by the $L \times W$ method of Kasiviswanathan *et al.* (1966) and the photosynthetic foliage area (PFA) was computed based on the number of leaves per plant and the average leaf area. Data were statistically analysed for variation and the results were compared using the critical difference (CD) value.

The second and third year experiments were based on the preliminary results of the pilot study of the first year. The experiments for the second and third years were laid out in a split plot design, covering two periods and pruning, i.e., first and third weeks of November in the main plots and five heights of cut, i.e., 15 cm, 90 cm, 120 cm, 150 cm and control (no pruning) in sub-plots. The data-recording method was the same as in the first year's experiment. Pruning times for later months (December and January) were dropped as they resulted in a lower leaf yield during the first year experiment possibly due to a lesser period of growth by the time mulberry leaves are required for feeding the silkworms in the spring commercial crop.

RESULTS AND DISCUSSION

The data presented in Table I show that in South Bihar winter pruning during the first week of November resulted in maximum leaf yield (9.06 t/ha) and bottom pruning (90 cm height) during the third week of November and middle pruning during the third week of November showed an almost similar leaf yield (7.98 and 7.30 t/ha, respectively, having no significant difference. Other tested pruning schedules resulted in a comparatively lower leaf yield. Top clipping (120 cm height and/or 150 cm height) during the second week of January, however, enhanced leaf yield over the control (no pruning). Bottom pruning during the first week of January resulted in the least output, which was even lower than that of the control. Similarly, bottom pruning during the first week of December also resulted in reduced leaf yield in comparison to the bottom pruning of November, indicating that in South Bihar the lower temperature which prevails during December to January does not allow the plants to grow at a reasonable pace and, therefore, leaves insufficient time for the plants to respond to pruning to support growth strikingly. The plant height and total number of branches were recorded maximum in the control. This was because of the advantage of the maximum initial height and number of unproductive branches borne by the plants at the time of pruning. Leaf area and photosynthetic foliage area (PFA) and even total number of leaves/plant were more or less of the order of leaf yield, indicating their significant contribution in the leaf production as compared to that of plant height and number of branches.

Subsequent experiments with pruning trials indicated that winter pruning during the third week of November resulted in higher leaf yield (Table II) and the growth and yield components that contributed towards the leaf yield appeared to be leaf area and PFA as both these components were observed to be significantly more under winter pruning during the third week of November as compared to pruning resorted to during the first week of November. Plant height, number of branches and even number of leaves, shoot length and internodal distance generally did not vary under the two periods of pruning. The other important quality parameter of leaf i.e. moisture was also observed to be more under winter pruning during the third week of November as compared to that of pruning during the first week of November.

Table 1. Growth and leaf yield of mulberry as affected by different winter pruning schedules in South Bihar (1992-93).*Tableau 1. Croissance et rendement du mûrier en fonction de différents calendriers de taille d'hiver dans le sud du Bihar (1992-93).*

Sl no.	Pruning schedule	Leaf yield (t/ha)	Plant height (cm)	No. of branches /plant	No. of leaves /plant	Shoot length (cm)	Leaf area (cm ²)	PFA (cm ² /plant)	Single leaf wt. (g)
N° d'ordre	Calendrier de taille	Rendement en feuilles (t/ha)	Hauteur du plant (cm)	Nombre de branches /plant	Nombre de feuilles /plant	Longueur d'une pousse (cm)	Surface foliaire (cm ²)	PFA (cm ² /plant)	Poids de la feuille (g)
1	Bottom pruning in Nov. 1st week <i>Taille bas 1ère semaine nov.</i>	9.06	139.70	31.00	689.90	124.20	94.80	6.53	1.10
2	Bottom pruning in Nov. 3rd week <i>Taille bas 3e sem. nov.</i>	7.30	127.20	30.00	627.40	110.50	86.30	5.42	0.97
3	Bottom pruning in Dec. 1st week <i>Taille basse 1ère sem. déc.</i>	4.88	104.60	25.70	544.40	86.10	76.10	4.13	0.75
4	Bottom pruning in Jan. 1st week <i>Taille basse 1ère sem. janv.</i>	1.80	99.00	18.20	290.70	84.90	64.80	1.86	0.52
5	Middle pruning in Nov. 1st week <i>Taille mi-hauteur 1ère sem. nov.</i>	4.79	163.20	29.10	436.30	75.40	54.30	2.38	0.92
6	Middle pruning in Nov. 1st week <i>Taille mi-hauteur 1ère sem. nov.</i>	7.98	168.60	29.70	609.30	79.20	91.60	5.57	1.09
7	Clipping at 120 cm in Jan. 2nd week <i>Elagage à 120 cm 2e sem. janv.</i>	3.62	160.40	27.20	413.30	45.20	30.20	1.25	0.73
8	Clipping at 150 cm in Jan. 2nd week <i>Elagage à 150 cm 2e sem. janv.</i>	2.17	188.90	36.10	284.80	35.20	9.30	0.27	0.63
9	Control (no pruning) <i>Témoin (pas de taille)</i>	2.17	188.90	36.10	284.80	35.20	9.30	0.27	0.63
	CD at 5%	0.50	9.27	2.04	43.50	8.60	3.40	0.27	0.07
	CV %	12.95	8.08	9.04	11.94	8.50	7.46	11.30	11.27

PFA: Photosynthetic foliage area in terms of square metres per plant / *Surface foliaire de photosynthèse en m² par plant*. CV: Coefficient of variation / *Coefficient de variation*.

Table II. Growth and leaf yield of mulberry as affected by different winter pruning schedules in South Bihar.

Tableau II. Croissance et rendement du mûrier en fonction de différents calendriers de taille d'hiver dans le sud du Bihar.

Sl no.	Pruning schedule	Leaf yield (t/ha)		Plant height (cm)		No. of branches /plant		No. of leaves /plant		Shoot length (cm)	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995
N° de série	Calendrier de taille	Rendement en feuilles (t/ha)		Hauteur du plant (cm)		Nombre de branches/plant		Nombre de feuilles/plant		Longueur d'une pousse (cm)	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995
A	Pruning time / Epoque de taille										
	Nov. 1st week / 1 ^{ère} semaine nov.	5.54	4.60	216.30	180.00	39.00	39.90	714.35	453.00	88.20	74.70
	Nov. 3rd week / 3 ^e semaine nov.	6.56	5.14	226.00	186.40	38.50	39.70	707.27	506.80	96.50	85.00
	CD at 5%	0.18	0.11	NS	NS	NS	NS	NS	11.11	NS	NS
B	Pruning height / Hauteur de taille										
	1 15 cm	7.84	5.90	190.70	192.50	21.00	26.50	460.33	508.30	164.50	167.60
	2 90 cm	7.47	5.42	206.20	195.20	23.50	34.70	534.00	422.00	117.70	100.20
	3 120 cm	6.61	5.55	212.30	172.30	43.20	41.20	832.67	470.20	78.50	68.00
	4 150 cm	5.43	4.59	223.70	180.70	46.80	41.20	749.50	457.70	78.20	33.50
	5 Control / Témoin	2.90	2.90	273.00	175.30	59.30	55.70	977.53	541.20	22.80	30.20
	CD at 5%	0.29	0.69	12.34	13.52	2.76	5.50	36.45	32.26	7.82	9.04
	CD for interaction Intervalle de confiance pour l'interaction	0.12	NS	12.34	13.52	2.76	NS	14.88	32.26	7.82	9.04

Continued / Suite page suivante

Table II. Continued / *Tableau II. Suite*

Sl no.	Pruning schedule	Internodal distance (cm)		Leaf area (cm ²)		PFA (cm ² /plant)		Single leaf weight (g)		Leaf moisture (%)	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995
N° de série	Calendrier de taille	Distance internodale (cm)		Surface foliaire (cm ²)		PFA (cm ² /plant)		Poids d'une feuille (g)		Eau (%)	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995	1994	1995
A	Pruning time / Epoque de taille										
	Nov. 1st week / 1ère semaine nov.	3.81	3.90	65.50	79.10	4.07	3.67	0.85	0.88	69.00	71.10
	Nov. 3rd week / 3e semaine nov.	4.21	3.87	74.80	85.60	4.99	4.11	0.85	0.93	70.90	72.40
	CD at 5%	NS	NS	5.03	6.11	0.73	0.27	NS	NS	0.32	0.15
B	Pruning height / Hauteur de taille										
	1 15 cm	5.39	4.66	82.10	103.10	3.78	5.19	1.43	1.12	72.60	72.20
	2 90 cm	4.11	4.35	96.10	105.60	5.23	4.50	1.27	1.07	71.10	72.60
	3 120 cm	4.01	4.04	75.50	94.20	6.28	4.44	0.68	0.98	70.30	72.10
	4 150 cm	3.85	3.25	63.90	70.30	4.60	3.22	0.63	0.84	69.70	71.90
	5 Control / Témoin	2.68	3.12	33.50	38.60	2.76	2.12	0.25	0.49	65.90	70.00
	CD at 5%	0.42	0.30	5.09	6.63	0.92	0.64	0.09	0.09	1.30	0.67
	CD for interaction	0.42	0.30	5.09	2.71	0.38	0.26	0.04	0.04	NS	0.67
	<i>Intervalle de confiance pour l'interaction</i>										

PFA: Photosynthetic foliage area in terms of square metres per plant / *Surface foliaire de photosynthèse en m² par plant.*

The height at which plants were cut had a remarkable influence on growth and leaf yield, which gradually reduced significantly as the height of the cut was raised. The growth and yield components which showed parallel results with leaf yield were leaf area, PFA, and extension growth (shoot length) and not the height of the plant, number of branches and number of leaves, the later three components were recorded more in control patches and height at which plants were pruned as compared to those under low-cut pruning schedules. Similarly, the internodal distance was also less in the control and high-cut pruning schedules possibly due to retarded extension growth during winter months due to auxin accumulation in their apices. Leaf moisture was also more in the leaves of bottom-pruned plants and it got gradually reduced with the increase in height of the cut, thus showing lowest moisture in the leaves of control plants.

It is an established fact that pruning increases leaf yield and quality (Ullal and Narasimhanna, 1987; Rangaswami *et al.*, 1976; Kasiviswanathan *et al.*, 1981). The present study corroborates studies done elsewhere and reveals that the right time for pruning under South Bihar agro-climatic conditions is the third week of November, which can enhance the leaf yield by 168% and bottom pruning can be resorted to without adverse effects even during dry months. However, this effect has to be confirmed with repeated pruning to see its impact on the survival of plants in the long run. The pruning at lower heights has more advantages in terms of leaf yield and leaf quality (moisture percentage) so far as South Bihar agro-climatic conditions are concerned. Kaul and Bhagat (1991) have also reported that winter pruning in mulberry in Jammu and Kashmir at lower cuts (0-0.75 m) improved leaf quality but, in their case, higher cuts (1-1.25 m) improved the leaf yield. The important components that contributed to leaf production appear to be extension growth (shoot length), leaf area, PFA and single leaf weight and not the plant height, number of branches, internodal distance and number of leaves.

The whole exercise has revealed that in South Bihar, where the rearing capacity of mulberry gardens during the spring commercial crop was awfully low for want of sufficient mulberry leaves by then, the winter pruning during the third week of November could well be recommended for manifold increase in mulberry leaf production and, thereby, enhanced uptake of silkworms, resulting in higher income to sericulturists. The present exercise has opened a new vista in the history of sericulture in South Bihar. It is to be noted that, before launching this project, the farmers in this area were practising the single pruning system in mulberry gardens on the onset of monsoon and were reluctant to resort to a second pruning in the dry months, apprehending that it would cause damage and even death of mulberry plants.

Top clipping at 120 cm or 150 cm height during the second week of January, when the buds start unfurling after the winter dormancy is over, was assessed as a suitable package which fits in well with the socio-economic conditions of the sericulturists of this region as this method does not require additional nutrients as input. The stored food in the stem is translocated to growing parts during spring (Shirata and Takahashi, 1987). Thus by adopting this method of pruning, sericulturists of South Bihar could be benefited by increasing the uptake of silkworms in the spring commercial crop and thereby ensuring more income through silkworm rearing. But for well-to-do farmers having additional resources like nutrients and irrigation, bottom pruning or at least pruning at 90 cm height during the third week of November is ideal.

REFERENCES

- KASIVISWANATHAN K., CHOUDHARY P.C., BONGALE U.P., KRISHNASWAMI S. (1981) Effect of top clipping on growth and developmental pattern of Kanva-2 under irrigated conditions. *Indian J. Seric.*, 20, 21-26.
- KASIVISWANATHAN K., IYENGAR M.N.S., NATARAJAN N. (1966) Simple method for leaf area estimation in mulberry, *Morus alba* L. *Indian J. Seric.*, 5, 18.
- KAUL A., BHAGAT R.L. (1991) Effect of winter pruning on the spring leaf of mulberry. *Indian J. Seric.*, 30(2), 131-134.
- RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.R., JOLLY M.S. (1976) *Sericulture Manual 1. Mulberry Cultivation*. 150 pp., FAO, Rome.
- SHIRATA K., TAKAHASHI H. (1987) Seasonal change of nitrogen components in grown up mulberry tree. *J. Sericult. Sci. Japan*, 56(1), 52-58.

ULLAL S.R., NARASIMHANNA M.N. (1987) Handbook of Practical Sericulture. Third edition, 166 pp., Central Silk Board, Bangalore.

EVALUATION D'UN PROGRAMME DE TAILLE HIVERNAL POUR LES MURAIES DU BIHAR DU SUD

J. JAYASWAL*¹, S.K. GANGWAR*², B. D. SINGH, A.K. ROY, P.S. SINHA, M.K. SINGH
& P.K MISHRA

Regional Sericultural Research Station, Vinod Villa, West End Park, hehal, Ranchi - 834 005,
Bihar, Inde

La capacité d'élevage de mûraies bien établies, dans le Chotanagpur, pendant la récolte commerciale du printemps est comparativement faible. On constate en fait, que cela tient à la quantité réduite de feuilles à cette période. Cela est dû en premier lieu à une organisation annuelle unique de la taille en Juin qui permet de meilleurs rendements de feuilles en août, mais qui ralentit progressivement la production de feuilles au fur et à mesure que l'on se rapproche du printemps suivant. Nous avons évalué une série de programmes de taille pour améliorer la production de feuilles pendant la récolte commerciale du printemps et nous avons constaté qu'une taille basse et/ou au milieu effectuée pendant la troisième semaine de novembre est la meilleure en termes de rendement en feuilles, d'humidité de la feuille et d'autres paramètres de croissance tels que la longueur des pousses et le nombre de branches, le nombre de feuilles et la surface foliaire photosynthétique (PFA). L'élagage (à une hauteur de 120 cm à 150 cm) pendant la deuxième semaine de janvier permet aussi d'améliorer le rendement et la qualité des feuilles par rapport au témoin mais en restant bien inférieurs à ceux obtenus avec la taille de novembre.

INTRODUCTION

La sériciculture mûrier dans le Bihar du Sud dépend en grande partie des pluies et un programme de taille unique a lieu pendant la troisième semaine de juin (en fonction du début de la mousson). Au cours de la longue période qui s'écoule entre la taille de juin et la récolte commerciale du printemps suivant la croissance de la plante et l'expansion des feuilles sont ralenties jusqu'au mois de mars de l'année suivante, ce qui finalement limite la capacité du mûrier à supporter des élevages plus importants. Les températures basses et l'humidité du sol réduites en hiver aggravent cette situation en retardant la croissance des plantes.

On sait que la taille améliore le rendement et la qualité des feuilles des plants de mûrier. De plus, elle permet d'ajuster la période de production par rapport à l'acceptabilité du fourrage par les vers à soie et de donner une forme et une taille convenables aux plants (Ullal et Narashimhanna, 1987; Rangaswami et coll., 1976). Il existe un rapport sur l'amélioration du rendement et de la qualité des feuilles de mûrier au printemps par le recours à une taille hivernale à une altitude élevée dans le Jammu et le Cachemire (Kaul et Bhagat, 1991). Mais, il n'existe pas d'étude systématique sur la taille de mûriers en hiver dans la ceinture non irriguée par la pluie du plateau du Sud du Bihar (200 à 350m d'altitude), bien qu'il soit établi que la production de feuilles dans cette zone est très faible pendant la récolte commerciale du printemps, ce qui se répercute sur la consommation du ver à soie. Nous avons donc décidé de mettre au point un véritable programme tenant compte de la hauteur et de la période de taille de manière à recommander une technique adaptée pour augmenter le rendement en feuilles de mûrier pendant la récolte de printemps (mars) pour les exploitants du Sud du Bihar.

* Adresses actuelles :

1. National Silkworm Seed Project Central Silk Board, B.T.M. Layout, Madiyala, Bangalore - 560 068, Inde
2. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, Dist. Murshidabad, West Bengal, Inde

MATERIELS ET METHODES

Nous avons mené cette expérience dans la plantation de mûriers existante de la Regional Sericultural Research Station, à Ranchi, pendant trois années successives, de 1992 à 1994. La première année d'expérimentation a été conçue comme une étude pilote avec neuf traitements comprenant une taille basse (élagage à 15 cm) pendant la première et la troisième semaine de novembre, la première semaine de décembre et la première semaine de janvier ; une taille médiane (de 90 cm) pendant la première semaine de novembre ; un élagage à 120 et 150 cm pendant la deuxième semaine de janvier et un témoin parallèle (pas de taille pendant l'hiver). Nous avons conçu cette expérience selon la méthode des blocs aléatoires, en gardant trois blocs (réplicats) pour chaque condition. Nous avons suivi des pratiques de culture et d'agronomie uniformes pour le mûrier non irrigué, si ce n'est que la taille de novembre a été très faiblement irriguée deux fois.

Nous avons enregistré les données sur la hauteur du plant, le nombre de branches, de feuilles, la longueur et la largeur des feuilles pendant la troisième semaine de mars quand les vers à soie de la récolte commerciale du printemps sont censés atteindre leur cinquième âge larvaire. La surface de la feuille a été calculée d'après la méthode $l \times W$ de Kasiviswanathan et coll. (1966) et l'aire photosynthétique de feuillage (PFA) a été estimée à partir du nombre de feuilles par plant et de la surface moyenne de la feuille. Les données concernant la variation ont été analysées de manière statistique et nous avons comparé les résultats en utilisant la valeur de différence critique (CD).

Nous nous sommes appuyés sur les résultats préliminaires de l'étude pilote de la première année pour mener les expériences de la deuxième et de la troisième année. Nous avons disposé les essais de la deuxième et de la troisième année selon la méthode de blocs séparés, comprenant deux périodes de taille, en l'occurrence la première et la troisième semaine de novembre dans les blocs principaux et quatre hauteurs de taille, en l'occurrence 15 cm, 90 cm, 120 cm, 150 cm et un témoin (pas de taille) dans les autres blocs. Nous avons utilisé la même méthode d'enregistrement des données que la première année des essais. Les tailles des derniers mois ont été abandonnées (décembre et janvier) car elles donnent un rendement en feuilles plus faible pendant la première année d'expérimentation, ceci étant sûrement dû au raccourcissement de la période de croissance jusqu'à la période où les vers à soie utilisent les feuilles de mûrier pour se nourrir pendant la récolte commerciale du printemps.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données présentées dans le Tableau 1 montrent que la taille d'hiver dans le Bihar du Sud pendant la première semaine de novembre entraîne un rendement maximal (9,06 t/ha) et que la taille basse de la troisième semaine de novembre et la taille médiane de la troisième semaine de novembre donnent un rendement en feuilles presque similaire, respectivement 7,98 et 7,30 t/ha, ce qui ne représente pas de différence significative. D'autres programmes de taille expérimentés donnent des rendements en feuilles comparativement plus bas. Un élagage en hauteur (à 120 et/ou 150 cm de hauteur) pendant la deuxième semaine de janvier améliore cependant le rendement en feuilles par rapport au témoin (pas de taille). La taille au pied pendant la première semaine de janvier, donne la production la plus faible, inférieure à celle du témoin. De même, une taille au pied réalisée pendant la première semaine de décembre donne aussi un rendement en feuilles réduit par rapport à la taille au pied de novembre, ce qui indique que les températures basses qui dominent de décembre à janvier dans le Sud du Bihar ne permettent pas aux plantes de pousser à un rythme raisonnable et donc, ne laissent pas assez de temps pour que les plants répondent à la taille pour bien se développer. Nous observons que la hauteur et le nombre total de branches est maximal pour le témoin. Cela est dû à l'avantage d'une taille initiale maximum et au nombre de branches non productives que les plants supportent à la période de la taille. La surface de la feuille et la surface de feuillage photosynthétique (PFA) et même le nombre total de feuilles/plant est plus ou moins de l'ordre du rendement en feuilles, ce qui indique que leur contribution à la production de feuilles est significative comparativement à la hauteur de plant et au nombre de branches.

Les expériences suivantes avec les essais de taille indiquent que la taille d'hiver pendant la troisième semaine de novembre permet un rendement de feuilles plus élevé (tableau II) et que les composants de croissance et de rendement qui contribuent au rendement en feuilles semblent être la

surface de la feuille et la PFA, car l'on observe que ces composants sont plus élevés avec la taille hivernale de la troisième semaine de novembre qu'avec la taille de la première semaine de novembre. La hauteur du plant, le nombre de branches et même le nombre de feuilles, la longueur des pousses et la distance internodale ne varient pas en général selon les deux périodes de taille. Nous constatons aussi que l'humidité de la feuille, un autre paramètre de qualité important, est plus élevée pendant la taille d'hiver de la troisième semaine de novembre que pendant celle de la première semaine de novembre.

La hauteur à laquelle les plants sont coupés a une influence considérable sur la croissance et le rendement en feuilles, ces derniers baissent progressivement de manière significative au fur et à mesure que la hauteur de l'élégage est plus élevée. La surface de la feuille, la PFA et la croissance (longueur de pousse) sont les composants de croissance et de rendement qui présentent des résultats parallèles au rendement en feuilles et non pas la hauteur des plants, le nombre de branches et le nombre de feuilles, ces trois derniers composants sont plus élevés dans les parcelles témoin et pour les plants taillés en hauteur que pour ceux qui sont taillés au bas. De la même manière, la distance internodale est moindre pour les témoins et pour les tailles élevées, ceci étant sûrement dû au retardement de la croissance des pousses provoqué par l'accumulation d'auxine dans les pousses apicales pendant l'hiver. La teneur en humidité des plants taillés bas est plus élevée, en revanche elle baisse progressivement avec l'augmentation de la hauteur de la taille, les feuilles des plants témoin contenant ainsi une humidité plus faible.

Il est de notoriété que la taille augmente le rendement et la qualité de la feuille (Ullal et Narasimhanna, 1987 ; Rangaswami et coll., 1976 ; Kasiviswanathan et coll., 1981). L'étude présente corrobore des études réalisées ailleurs et révèle que la période de taille adéquate pour les conditions agro-climatiques du Bihar du Sud est la troisième semaine de novembre, elle peut accroître le rendement en feuilles de 168 % et la taille basse n'a pas d'effets néfastes même pendant les mois secs. Cependant, il faudrait confirmer cet effet en pratiquant des tailles répétées pour observer leur impact sur la survie des plants à long terme. La taille à des hauteurs plus basses est plus avantageuse pour le rendement et la qualité des feuilles (pourcentage d'humidité) pour les conditions agro-climatiques du Bihar du Sud. Kaul et Bhagat (1991) ont aussi observé que des tailles basses du mûrier en hiver dans le Jammu et le Cachemir (0-0.75 m) améliorent la qualité de la feuille, mais, dans leur cas, des élévages plus élevés (1-1.25 m) améliorent le rendement en feuilles. Il semble que les composants qui contribuent à la production de feuilles soient l'extension des pousses (longueur de pousse), la surface de la feuille, la PFA et le poids individuel de la feuille et non la hauteur du plant, le nombre de branches, la distance internodale et le nombre de feuilles. L'expérience dans son ensemble a révélé que dans le Bihar du Sud, où la capacité d'élevage des plantations de mûrier pendant la récolte commerciale du printemps est très faible par manque de feuilles de mûrier à cette époque, on pourrait très bien recommander une taille hivernale pendant la troisième semaine de novembre pour augmenter de manière considérable la production de feuilles de mûriers. Cela permettrait aux vers à soie d'améliorer leur consommation, et aux sériciculteurs d'obtenir des revenus plus élevés. L'exercice présent ouvre une nouvelle perspective dans l'histoire de la sériciculture dans le Sud du Bihar. On doit noter, qu'avant de lancer ce projet, les exploitants de cette région pratiquaient un système de taille unique dans les mûraies au début de la mousson et étaient réticents à l'idée d'une deuxième taille pendant les mois secs, par crainte de détériorer ou de tuer les plants de mûriers.

Nous pensons qu'un élégage en hauteur à 120 ou 150 cm du sol pendant la deuxième semaine de janvier, quand les bourgeons commencent à s'ouvrir après la dormance d'hiver, est un dispositif adapté, qui convient aux conditions socio-économiques des sériciculteurs de cette région, cette méthode ne dépendant pas de l'apport de substances nutritives supplémentaires. La nourriture stockée dans la tige se déplace vers les pousses pendant le printemps (Shirata et Takahashi, 1987). Ainsi, cette méthode de taille pourrait profiter aux sériciculteurs du Bihar du Sud en permettant aux vers à soie d'accroître leur consommation pendant la récolte commerciale du printemps et en leur assurant de ce fait de meilleurs revenus par l'élevage du ver à soie. Mais, pour les exploitants aisés qui disposent de ressources supplémentaires telles que des substances nutritives et de l'irrigation, la taille basse ou au moins une taille à 90 cm de hauteur pendant la troisième semaine de novembre est idéale.

RESOURCE USE EFFICIENCY IN AGRICULTURE — A COMPARATIVE ANALYSIS OF SERICULTURE AND NON-SERICULTURE FARMS

R. MATTIGATTI & M.N.S. IYENGAR

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

Importance of sericulture in agriculture need not be overemphasised, since it is a highly remunerative, labour-intensive agricultural enterprise with lower gestation period and faster income turnover. A study was conducted to evaluate and compare the resource use efficiencies on sericultural and non-sericultural farms in the Hassan district of Karnataka. The results revealed that both sericultural and non-sericultural farms had significantly different production functions. Both types of farms respond more to additional use of fertilisers. Sericulture farms used less fertilisers and a higher amount of farmyard manure (FYM). Labour had a significant contribution in the case of sericulture farms and gave more scope for additional use of labour. The labour was inefficiently used by non-sericulture farms. The gross profit of sericulture farms (Rs. 5981.16 per acre) was comparatively higher than that of the non-sericulture farms (Rs. 4066.62 per acre). The neutral technological efficiency for sericultural farms was 25.46 per cent more than for non-sericulture farms. The non-neutral technological efficiency was indicated more by labour (92.69 per cent) and chemicals (18.44 per cent) while fertilisers and FYM showed technological inefficiency. The overall non-neutral technological efficiency was positive (7.28 per cent). The gain in gross profits of sericulture farms as a result of change in quantity of input use was comparatively less, i.e., 5.84 per cent, out of which FYM contributed 6.45 per cent and labour 2.29 per cent, respectively. Other inputs like fertilisers and chemicals contributed negatively. The total gain in gross profits of sericulture farms was 38.58 per cent more than that of non-sericulture farms.

Keywords: Resource use efficiency, technological gap, sericulture, economics

INTRODUCTION

Sericulture is a highly remunerative agro-based enterprise. Unlike other agro-based activities, it has the advantages of faster income turnover and regular employment to rural households. It demands a shorter gestation period and provides high returns outperforming many cash crops. The role of sericulture in developmental objectives such as eradication of poverty and creating employment opportunities need not be overemphasised. Recently, sericulture has been rightly adjudged as one of the tools for rural development by the planners.

Sericulture in India has become one of the important export-oriented agro-based industries. In the world silk production, India stands as the second largest producer of raw silk next only to China. (Around 90 per cent of the total raw silk production is mulberry raw silk). During 1990-91, mulberry raw silk production was 11,487 tonnes, which constituted 90.7 per cent of total raw silk production. The export earnings from silk goods and silk waste were Rs. 4 405.3 million. In India, Karnataka is the leading sericultural State, which produced 6.076 million kg of mulberry raw silk during 1989-90, accounting for 55.72 per cent of the total mulberry raw silk production of the country. In Karnataka, sericulture is predominant in the southern districts of the State. Apart from sericulture, dairying, horticulture and agriculture are also well developed in the State. Within these districts, we have traditional districts and non-traditional districts as far as mulberry sericulture is concerned. The Hassan

district of Karnataka is one of the leading non-traditional districts of the State. The present study aims to evaluate and compare the resource use efficiency on sericultural and non-sericultural farms in the Hassan district of Karnataka.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in the Hassan district. Multi-stage stratified sampling was employed for selecting the sample farmers. In the Hassan district, two taluks, i.e. Channarayapatna and Arasikere, which have the highest area under irrigated mulberry were selected. Three villages from each taluk (in all six villages) were selected at random. Totally, 60 farmers at the rate of 10 per village were selected at random. These farmers were post-classified as sericulturists and non-sericulturists. Primary data were collected from the sample farmers through pre-tested questionnaires by the personal interview method for the agricultural year 1991-92.

Production function analysis was employed as an analytical tool for assessing the relationship between gross profit per average farm per year (Y) and five independent variables. However, before identifying the independent variables for analysis, zero-order correlation matrices were worked out and the correlation coefficients were examined for multicollinearity between independent variables. The variables identified for the functional analysis were as follows:

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$$

where,

Y = gross profit of the farm in rupees per acre per year.

X_1 = farm size in acres.

X_2 = cost of fertilisers per acre per year.

X_3 = cost of farmyard manure (FYM) per acre per year.

X_4 = cost of plant protection chemicals per acre per year.

X_5 = cost of labour per acre per year.

Taking into account the economic and statistical considerations, Cobb-Douglas type production functions were fitted to establish the functional relationship between the dependent variable (Y) and the independent variables (X_i 's).

$$Y = a X_1^{\beta_1} X_2^{\beta_2} X_3^{\beta_3} X_4^{\beta_4} X_5^{\beta_5} e^U$$

where, a is the constant, β_i 's are the regression coefficients which also represent the production elasticity coefficients and U is the random disturbance term independently distributed with zero mean and finite variance. The parameters of the functions a and β_i 's were estimated using the least square regression analysis by converting the functions into log linear forms.

$$\ln Y = \ln a + \beta_1 \ln X_1 + \beta_2 \ln X_2 + \beta_3 \ln X_3 + \beta_4 \ln X_4 + \beta_5 \ln X_5 + U \quad (1)$$

In order to study the technological difference between farms with sericulture and farms without sericulture the model following Bisaliah (1975) was adopted to decompose technological changes at various levels of production of the farm. For this purpose, the non-sericulturists' production functions were deducted from the sericulturists' production functions.

$$[\ln Y_m - \ln Y_n] = [\ln a_m - \ln a_n] + \sum [\beta_{mi} \ln X_{mi} - \beta_{ni} \ln X_{ni}] + [U_{mi} - U_{ni}] \quad (2)$$

By simultaneously adding and subtracting $\sum \beta_{mi} \ln X_{ni}$ in equation (2) and rearranging the terms, we get,

$$[\ln Y_m - \ln Y_n] = [\ln a_m - \ln a_n] + [\sum (\beta_{mi} - \beta_{ni}) \ln X_{ni}] + [\sum \beta_{mi} (\ln X_{mi} - \ln X_{ni})] + [U_{mi} - U_{ni}] \quad (3)$$

Subscripts *m* and *n* refer to sericulturists and non-sericulturists, respectively. The resultant equation (3) helped in decomposing the total percentage difference (gain) in gross profit (left-hand side of the equation) into the components of (i) neutral technological efficiency, (ii) non-neutral technological efficiency and (iii) the difference in the input use as represented by the first three bracketed expressions on the right-hand side of the equation, respectively. The last bracketed expression indicates the difference in the error terms.

RESULTS AND DISCUSSION

The Chow's *F* value indicated that there was a significant difference between the two production functions (Table I). The production function estimates of both sericultural and non-sericultural farms for fertiliser were significant, indicating that both types of farms responded well to fertiliser. A comparatively lower quantity of FYM used by the non-sericulture farms, as indicated by the geometric mean level (Rs. 258.52) compared to Rs. 372.31 in the case of sericulture farms. This has given scope for non-sericultural farms to use more FYM, as found out by the significant elasticity coefficient and

Table I. Production function estimates and marginal value productivities (MVP's).

Tableau I. Estimation des fonctions de production et productivités à valeur marginales.

	Production function estimates		Geometric mean levels		Marginal value products	
	<i>Fonctions de production estimées</i>		<i>Niveaux moyens géométriques</i>		<i>Produits à valeur marginale</i>	
	SF	NSF	SF	NSF	SF	NSF
Intercept / <i>Interception</i>	463.100	359.020				
Farm size (in acres) <i>Taille de la ferme (en acres)</i>	0.01	0.016	5.312	11.121	11.26	05.85
Fertilisers (in Rs./a.) <i>Engrais (roupies/acre)</i>	0.032*	0.146*	368.680	398.900	05.19	01.49
Farmyard manure (in Rs./a.) <i>Fumier de ferme troupies/acre)</i>	(0.013)	(0.072)	372.310	258.520	02.84	03.74
Chemicals (in Rs./a.) <i>Produits chimiques (roupies/acre)</i>	0.177	0.238*	23.250	31.520	16.20	01.16
Labour (in Rs./a.) <i>Main-d'oeuvre (roupies/acre)</i>	0.063	0.009	591.620	518.519	01.76	0.20
Gross profit (in Rs./a.) <i>Bénéfices bruts (roupies/acre)</i>	(0.181)	(0.113)	5981.156	4066.620	-	-
Chow's <i>F</i> / <i>Valeur F de Chow</i>	(0.082)	(0.042)				
		6.457*				

SF: Sericulture farms / *Fermes sèricoles*. NSF: Non sericulture farms / *Fermes non sèricoles*.

Figures in parentheses indicate the standard error of the estimates / *Les chiffres entre parenthèses indiquent l'écart type des valeurs estimées*.

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

higher value of marginal value productivity (MVP). However, for both types of farms, the MVP's were higher (2.84 and 3.74). The estimates for the farm size were non-significant, however, the values of the estimates were positive with the positive MVP values (Rs. 16.26 per acre and Rs. 5.85 per acre,

respectively). Any increase in the farm size would not affect the production process. The contribution of chemicals was non-significant for both sericulture and non-sericulture farms. The higher amount of chemicals used by non-sericulture farms (Rs. 31.52) as against sericulture farms (Rs. 23.25) did not significantly contribute to the gross income. Labour was significant in the case of sericulture farms at a higher level of input use (Rs. 591.61). The MVP was also higher (Rs. 1.76), giving more scope for employment on sericulture farms. The labour was inefficiently used in the case of non-sericulture farms, as indicated by a much lower MVP of 0.20. Any decrease in the labour use would increase the profits of the non-sericulture farms. The gross profit of sericulture farms (Rs. 5981.156) was comparatively higher than that of the non-sericulture farms (Rs. 4066.62).

Technological difference:

The technological gap between sericulture and non-sericulture farms was broken into (i) neutral technological efficiency, (ii) non-neutral technological efficiency and (iii) difference due to change in input use and is presented in Table II. (i) and (ii) together gave total technological efficiency.

Table II. Technological break-up of the difference between production functions of sericulture and non-sericulture farms.

Tableau II. Décomposition technologique de la différence des fonctions de production entre les fermes séricicoles et non séricicoles.

Source	Percentage difference
<i>Source</i>	<i>Différence (%)</i>
1. Neutral technology / Technologie neutre	25.456
2. Non-neutral technology / Technologie non neutre	
Farm size / Taille de la ferme	-1.445
Fertilisers / Engrais	-68.442
Farmyard manure / Fumier de ferme	-33.965
Chemicals / Produits chimiques	18.436
Labour / Main-d'oeuvre	92.693
Sum (2) / Somme 2	7.277
Sum (1 + 2) / Somme 1 + 2	7.277
3. Change in input use / Variation de l'utilisation des dépenses	
Farm size / Taille de la ferme	-0.739
Fertilisers / Engrais	-0.252
Farmyard manure / Fumier de ferme	6.451
Chemicals / Produits chimiques	-1.904
Labour / Main-d'oeuvre	2.291
Sum (3) / Somme 3	5.847
Sum (1 + 2 + 3) / Somme 1 + 2 + 3	38.580
Total gain / Bénéfice total	38.580

Neutral technological efficiency:

The contribution of neutral technological efficiency was 25.46%, which was due to a parallel shift in the production function along the y axis.

Non-neutral technological efficiency:

The non-neutral technological efficiency contributed 7.28% to the total change. The technological efficiency was mainly due to the contribution of labour to the extent of 92.69% and chemicals (18.44%) while fertiliser and FYM showed technological inefficiency accounting 68.44% and 33.97%, respectively.

Change in input use:

The contribution due to change in input use was 5.84%, out of which FYM contributed to the extent of 6.45 and labour 2.29. Other inputs like fertiliser and chemicals contributed negatively. The total change or the total gain in gross profit was 38.58%.

CONCLUSION

The study conducted to evaluate the resource use efficiency on sericulture farms indicated that the sericulture farmers used more FYM on their farms (agriculture) compared to non-sericulturists. Labour was efficiently utilised. The technological break-up indicated that sericulturists could achieve 38.58 per cent more return per acre. This was mainly due to technologically efficient use of human labour and chemicals. Thus, it can be concluded that sericulture helps in increasing the farm income, beside helping in efficient use of existing human labour and providing further employment opportunities. Hence, sericulture should be considered in overcoming problems of unemployment, underemployment and poverty of the rural farmers.

REFERENCES

- BISALIAH S. (1975) Impact of Technological Change on Output, Employment and Functional Income Distribution. Ph.D. Dissertation, University of Minnesota, St Paul, USA.
CHOW G.C. (1960) Test of equality between sets of coefficients in two linear regressions. *Econometrica*, 28(3), 591-605.

EFFICACITE DE L'UTILISATION DES RESSOURCES EN AGRICULTURE : ANALYSE COMPARATIVE DES EXPLOITATIONS SERICICOLES ET NON SERICICOLES

R. MATTIGATTI & M.N.S. IYENGAR

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

On ne souligne pas assez l'importance de la sériciculture dans le domaine agricole : c'est une activité fortement rémunératrice, créatrice d'emplois, avec une courte période de gestation et permettant d'obtenir rapidement un revenu. Une étude a été réalisée afin d'évaluer et de comparer l'efficacité d'utilisation des ressources dans les exploitations sérícicoles et non sérícicoles du district de Hassan dans le Karnataka. Les résultats obtenus révèlent que les fermes sérícicoles et non sérícicoles ont des fonctions de production fortement différentes. Les deux types de fermes donnent une réponse à l'utilisation d'engrais supplémentaire. Les fermes sérícicoles utilisent moins d'engrais et davantage de fumier de ferme. La main-d'oeuvre a une contribution importante au niveau des fermes sérícicoles, ouvrant des possibilités d'emplois supplémentaires. La main-d'oeuvre n'est pas utilisée de façon efficace par les fermes non sérícicoles. Les bénéfices bruts des fermes sérícicoles (5 981,16 roupies par acre) sont comparativement plus élevés que ceux des fermes non sérícicoles (4066,62 roupies par acre). L'efficacité de la technologie neutre pour les fermes sérícicoles est supérieure de 25,46 % à celle observée pour les fermes non sérícicoles. L'efficacité de la technologie non neutre est due à la main-d'oeuvre (92,69 %) et aux produits chimiques (18,44 %) tandis que les engrais et le fumier de ferme sont technologiquement inefficaces. L'efficacité globale des technologies non neutres est positive (7,28 %). L'augmentation des bénéfices bruts pour les fermes sérícicoles résultant du changement du taux d'utilisation des facteurs de production est comparativement faible, soit 5,84 %, sur le total desquels le fumier de ferme contribue à hauteur de 6,45 % et la main-d'oeuvre à hauteur de 2,29 %. Les autres facteurs de production comme les engrais et les produits chimiques ont une contribution négative. L'augmentation totale des bénéfices bruts des fermes sérícicoles est supérieure de 38,58 % à celle des bénéfices bruts des fermes non sérícicoles.

INTRODUCTION

La sériciculture est une activité agricole fortement rémunératrice. A la différence des autres activités agricoles, elle présente l'avantage de générer des revenus rapidement et d'offrir des emplois réguliers aux populations rurales. Du fait de sa période de gestation courte et des bénéfices élevés qu'elle génère, cette activité a une rentabilité beaucoup plus importante que de nombreuses autres cultures de rapport. Le rôle de la sériciculture dans les projets de développement comme l'éradication de la pauvreté et la création d'emplois est donc extrêmement important. La sériciculture est maintenant considérée par les planificateurs comme l'un des outils du développement dans les zones rurales.

La sériciculture en Inde est devenue l'un des principaux secteurs agricoles tournés vers l'exportation. Sur le marché mondial, l'Inde est le deuxième producteur de soie grège, derrière la Chine (environ 90 % de la soie grège totale étant la soie mûrier). Au cours de la période 1990-91, la production de soie grège mûrier était de 11 487 tonnes, soit 90,7 % de la production de soie grège totale. Les ventes à l'exportation de produits et de déchets de soie s'élevaient à 4 405,31 millions de roupies. En Inde, le Karnataka est le principal Etat sérícicole et a produit 6,076 millions de kg de soie grège mûrier sur la période 1989-90, soit 55,72 % de la production de soie grège mûrier du pays. Dans le Karnataka, la sériciculture est une activité dominante dans les districts du sud de l'Etat. Outre la sériciculture, l'industrie laitière, l'horticulture et l'agriculture sont également bien développées dans

le Karnataka. Les districts du Karnataka se divisent en districts traditionnels et en districts non traditionnels pour ce qui concerne la sériciculture mûrier. Le district de Hassan est l'un des principaux districts non traditionnels de l'Etat. Cette étude a été réalisée afin d'évaluer et de comparer l'efficacité d'utilisation des ressources dans les fermes séricicoles et non séricicoles dans le district de Hassan du Karnataka.

MATERIELS ET METHODES

Cette étude a été réalisée dans le district de Hassan. On a utilisé la méthode du sondage stratifié en plusieurs étapes pour sélectionner l'échantillon de fermiers. On a choisi les deux taluks, Channarayana et Arasikere, qui possèdent les surfaces de mûrier irrigué les plus importantes du district de Hassan. Trois villages dans chaque taluk (en tout six villages) et 60 fermiers à raison de 10 par village ont été sélectionnés au hasard. Ces fermiers ont été répartis en deux catégories : sériciculteurs et non sériciculteurs. Les données brutes ont été recueillies auprès des fermiers au moyen de questionnaires prétestés et par entretiens privés pour la période agricole 1991-92.

L'analyse des fonctions de production a été utilisée comme outil analytique afin d'évaluer la relation entre les bénéfices bruts par fermier et par an (Y) et cinq variables indépendantes. Avant d'identifier les variables indépendantes à analyser, des matrices de corrélation d'ordre zéro ont été calculées et la multicolinéarité entre les variables indépendantes a été établie d'après les coefficients de corrélation. Les variables identifiées pour l'analyse de fonction sont les suivantes :

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$$

Y = bénéfices bruts de la ferme en roupies par acre et par an.

X₁ = taille de la ferme en acres.

X₂ = coût des engrais par acre et par an.

X₃ = coût du fumier de ferme par acre et par an.

X₄ = coût des produits chimiques de protection des plantes par acre et par an.

X₅ = coût de la main-d'oeuvre par acre et par an.

Compte tenu des contraintes économiques et statistiques, les fonctions de production du type Cobb-Douglas ont été ajustées pour établir la relation fonctionnelle entre la variable dépendante (Y) et les variables indépendantes (X_i).

$$Y = a X_1^{\beta_1} X_2^{\beta_2} X_3^{\beta_3} X_4^{\beta_4} X_5^{\beta_5} e^U$$

a est la constante, les β_i correspondent aux coefficients de régression qui représentent également les coefficients d'élasticité de production et U est le terme de perturbation aléatoire distribué avec une moyenne zéro et une variance finie. Les paramètres des fonctions a et β_i ont été évalués selon l'analyse de régression des moindres carrés en convertissant les fonctions en formes linéaires logarithmiques.

$$\ln Y = \ln a + \beta_1 \ln X_1 + \beta_2 \ln X_2 + \beta_3 \ln X_3 + \beta_4 \ln X_4 + \beta_5 \ln X_5 + U \quad (1)$$

Pour l'étude de la différence technologique entre les fermes séricicoles et les fermes non séricicoles, le modèle de Bisalialah (1975) a été adopté pour décomposer les variations technologiques à différents niveaux de production de la ferme. Pour ce faire, les fonctions de production des fermes non séricicoles ont été déduites de celles des fermes non séricicoles.

$$[\ln Y_m - \ln Y_n] = [\ln a_m - \ln a_n] + \sum [\beta_{mi} \ln X_{mi} - \beta_{ni} \ln X_{ni}] + [U_m - U_n] \quad (2)$$

En ajoutant et en déduisant simultanément $\sum \beta_{mi} \ln X_{ni}$ à l'équation (2) et en réorganisant les termes, on obtient :

$$[\ln Y_m - \ln Y_n] = [\ln a_m - \ln a_n] + [\sum (\beta_{mi} - \beta_{ni}) \ln X_{ni}] + [\sum \beta_{mi} (\ln X_{mi} - \ln X_{ni})] + [U_{mi} - U_{ni}] \quad (3)$$

L'indice m correspond aux fermes séricicoles et l'indice n aux fermes non séricicoles. L'équation obtenue (3) permet de décomposer le pourcentage total de différence (augmentation) des bénéfices bruts (partie gauche de l'équation) en trois composants : 1) efficacité de la technologie neutre, 2) efficacité de la technologie non neutre, 3) différence d'utilisation des facteurs de production ; ces trois composants correspondant aux trois premières expressions entre crochets dans la partie droite de l'équation. La dernière expression entre crochets indique la différence des termes d'écart.

RESULTATS ET DISCUSSION

La valeur F de Chow indique qu'il y a une différence significative entre les deux fonctions de production (Tableau I). Les estimations des fonctions de production des fermes séricicoles et non séricicoles pour les engrais sont significatives, ce qui indique que les deux types de fermes réagissent bien à l'utilisation des engrais. Les fermes non séricicoles utilisent une quantité comparativement plus faible de fumier de ferme, comme l'indique le niveau moyen géométrique qui est de 258,52 roupies contre 372,31 roupies pour les fermes séricicoles. Ceci donne aux fermes non séricicoles la possibilité d'utiliser davantage de fumier de ferme, comme le montrent le coefficient d'élasticité positif et l'augmentation des chiffres de la productivité à valeur marginale. Cependant, pour les deux types de fermes, les chiffres de la productivité à valeur marginale sont plus élevés (2,84 et 3,74). Les estimations pour la taille de la ferme ne sont pas significatives ; cependant, les valeurs estimées sont positives par rapport aux chiffres de la productivité à valeur marginale (respectivement 16,26 roupies par acre et 5,85 roupies par acre). L'augmentation de la taille de la ferme n'affecte pas le processus de production. La contribution des produits chimiques n'est pas significative quel que soit le type de ferme. La quantité plus importante de produits chimiques utilisés par les fermes non séricicoles (31,52 roupies) par rapport aux fermes séricicoles (23,25 roupies) ne contribue pas de manière significative aux revenus bruts. La main-d'œuvre est significative dans le cas des fermes séricicoles lorsque le niveau d'utilisation des dépenses est élevé (591,61 roupies). La productivité à valeur marginale est également élevée (1,76 roupies), ce qui indique que les fermes séricicoles peuvent utiliser davantage d'employés. La main-d'œuvre est utilisée de manière inefficace dans le cas des fermes non séricicoles, comme le montre le chiffre nettement inférieur obtenu pour la productivité à valeur marginale. Toute diminution de l'utilisation de la main-d'œuvre entraîne une augmentation des bénéfices pour les fermes non séricicoles. Les bénéfices bruts des fermes non séricicoles (5 981,156 roupies) sont comparativement plus élevés que ceux des fermes séricicoles (4 066,62 roupies).

Différence technologique :

L'écart technologique entre les fermes séricicoles et non séricicoles a été décomposé en trois facteurs : 1) efficacité de la technologie neutre, 2) efficacité de la technologie non neutre et 3) différence due à la variation d'utilisation des facteurs de production (Tableau II). La somme des facteurs 1 et 2 donne l'efficacité technologique totale.

Efficacité de la technologie non neutre :

L'efficacité de la technologie non neutre contribue à 7,28 % de la variation totale. L'efficacité de la technologie est principalement due à la contribution de la main-d'œuvre (92,69 %) et des produits chimiques (18,44 %) tandis que les engrais et le fumier de ferme présentent une inefficacité technologique de 68,44 % et 33,97 % respectivement.

Variation de l'utilisation des facteurs de production :

La contribution due à la variation de l'utilisation des facteurs de production est de 5,84 %, sur le total desquels le fumier de ferme contribue à hauteur de 6,45 % et la main-d'œuvre à hauteur de 2,29 %. Les autres facteurs de production comme les engrais et les produits chimiques ont une contribution négative. La variation totale, ou l'augmentation totale des bénéfices bruts, s'élève à 38,58 %.

CONCLUSION

Cette étude, qui a été réalisée afin d'évaluer l'efficacité d'utilisation des ressources dans les fermes séricicoles, indique que les fermiers séricicoles utilisent davantage de fumier de ferme (agriculture) que les fermiers non séricicoles. La main-d'oeuvre est utilisée de manière efficace. La décomposition de la technologie indique que les sériciculteurs pourraient obtenir 38,58 % de bénéfices de plus par acre. Ceci est dû principalement à l'utilisation efficace, sur le plan technologique, de la main-d'oeuvre et des produits chimiques. On peut donc en conclure que la sériciculture contribue à augmenter les revenus fermiers ; elle contribue également à utiliser de manière efficace la main-d'oeuvre existante et génère des emplois. La sériciculture devrait donc être prise en compte pour surmonter les problèmes du chômage, du sous-emploi et de la pauvreté chez les populations rurales.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF CHARACTERISTICS OF RAW SILK BY SERIPLANE TEST AND USTER EVENNESS TESTER

S.L. CHILAKWAD, B.V. VASUMATHI, B.N. LAKSHMIPATHAIAH & G.S. NADIGER

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

Assessment of quality characteristics of raw silk, i.e., evenness, neatness and cleanness, has been done by subjective method, i.e., Seriplane test, till date. Objective assessment of these characteristics is attempted using an electronic tester. The Uster tester for raw silk is an electronic measuring instrument which determines variations in the weight per unit length present in the test material by means of a capacity measuring system. Around 250 lots of raw silk (both multivoltine and bivoltine) from various sources were tested. A detailed regression analysis has been made. In the present paper, the experimental data on the quality of Indian silk vis-à-vis the applicability of the above method is discussed.

Keywords: Uster evenness tester, Seriplane test, evenness, cleanness, neatness, raw silk.

INTRODUCTION

Silk is one of the first textile materials to be tested for quality using the Seriplane. The object of the Seriplane test is basically to evaluate the evenness, neatness and cleanness characteristics of raw silk under standard lighting conditions and such other stipulated conditions for subjective assessment of the parameters.

A. Evenness variations are those defective portions of raw silk threads on an inspection board which show stripes caused by variations in the size of raw silk to such a degree as is easily noticeable by visual inspection. The degree of such size variations of the raw silk thread is called the intensity of variation. Standards are established for the purpose of determining the intensity of variations and are shown by the standard variation photographs.

B. The cleanness defects are classified into three major groups, i.e., super major defects, major defects and minor defects. Standard photographs of these cleanness defects are used to compare each defect in the sample. The defects are counted and classified under super major, major and minor as per the standard photographs and penalised accordingly.

C. Imperfections which are smaller than those classified under minor cleanness defects are called neatness defects. The standard photographs for neatness consist of standard raw silk panels of different neatness values, against which the sample panels are compared and rated (ISA, 1952).

The Uster tester for raw silk is an electronic-measuring instrument which determines the variations in the weight per unit length in the test material by means of a capacitance-measuring system (Hattenschwiler and Pauer)

Uster evenness as determined on the Uster tester is a measure of the variations in the yarn cross section over the length of the yarn up to approximately 20 m. The instrument traces out short-term denier deviations (evenness change degree) which in the routine size test are not determined. The imperfection indicator of the Uster tester gives a count of the imperfections known as cleanness and neatness present in the yarn. The cleanness counter results are divided into 'short' and 'long', and

these two classes are claimed to correspond approximately to the minor and major cleanness defects, respectively (Freitag, 1982).

The producer as well as the consumer countries have reacted sharply to the proposal of switching over to electronic methods of testing. Sericulturally advanced countries, i.e., China and Japan, have not accepted this newly evolved method. Keeping this in view, it was felt necessary to study the predictability of the electronic method and its adaptability to Indian conditions.

MATERIALS AND METHODS

Two hundred and fifty lots of commercially available multivoltine and bivoltine raw silk were taken for the study. The samples of raw silk skeins were wound onto the bobbins and tested to determine the size. Later, the bobbins were tested on Seriplane to assess the evenness, neatness and cleanness of raw silk as per the standard procedure. The same bobbins were used to assess these characters on Uster tester, IS. One reading for a duration of 2.5 minutes at a speed of 400 m per minute was taken from each bobbin, covering a total test length of 1,000 m per bobbin. There were on an average 10 bobbins in each lot. Therefore, a total of 10,000 m were tested for each lot. The duration of testing of 10 bobbins was 25 minutes with a replenishing and adjusting time of around 10 minutes. Hence, the total time for testing a lot of 10 bobbins worked out to be 35 minutes.

Two Seriplane boards were made from the ten bobbins, i.e., two panels per bobbin and a total of 20 panels were assessed. The board winding time and duration of assessing the two boards were around 20 minutes and 25 minutes, respectively, i.e., the total time of testing a lot of 10 bobbins works out to be 35 minutes.

The two sets of data on evenness, neatness and cleanness, one set on Seriplane and the other set on Uster tester were later statistically analysed using SPSS package. Detailed correlation and regression analyses were made to see the strength of relationship between the two sets of values and also to know the possibility of predicting one set of values from the other. The scatter points of evenness versus Uster CV %, cleanness versus Uster cleanness, and neatness versus Uster neatness along with the best fitting lines were plotted.

The correlation coefficient, coefficient of determination, and the best fit equation for the line of regression along with the test of significance were also worked out.

RESULTS AND DISCUSSION

Figures 1 and 2 show the scatter points and the best fitting line for evenness vs. Uster CV % and cleanness vs. Uster cleanness, respectively, and Fig. 3 shows the scatter points for neatness vs. Uster neatness. Table I gives the data on the correlation coefficient, coefficient of determination and the best fit equation for the line of regression along with the test of significance.

The scatter diagrams (Figures 1 and 2) for evenness and cleanness clearly indicate that there is a negative correlation between the two test methods; whereas the scatter diagram of neatness values (Fig. 3) does not indicate any correlation between the two test methods.

The correlation coefficient between Seriplane evenness and Uster CV % comes to -0.45, which indicates a reasonable strength at a significance level of 0.1%.

The correlation coefficient between Seriplane cleanness and Uster cleanness (both long and short) is -0.37, which is quite low when compared to that for evenness, but the trend does exist. The correlation coefficient is significant at 0.1%.

However, there is a glaring absence of any relationship between the two sets of values in respect of neatness. This essentially calls for a more detailed analysis to go into the reasons for such a discrepancy.

A second look at the scatter diagrams (Figs. 1 and 2) reveals further interesting information. It can be seen in Fig. 1 that the correlation is better in the range between 70% and 90% for evenness, while the correlation of Uster cleanness and Seriplane cleanness is improved in the range of 40% to 90% than over the entire range, as can be seen from Fig. 2. It implies that the response of the Uster equipment towards the detection of evenness and cleanness defects in a particular range is better than that of the entire range.

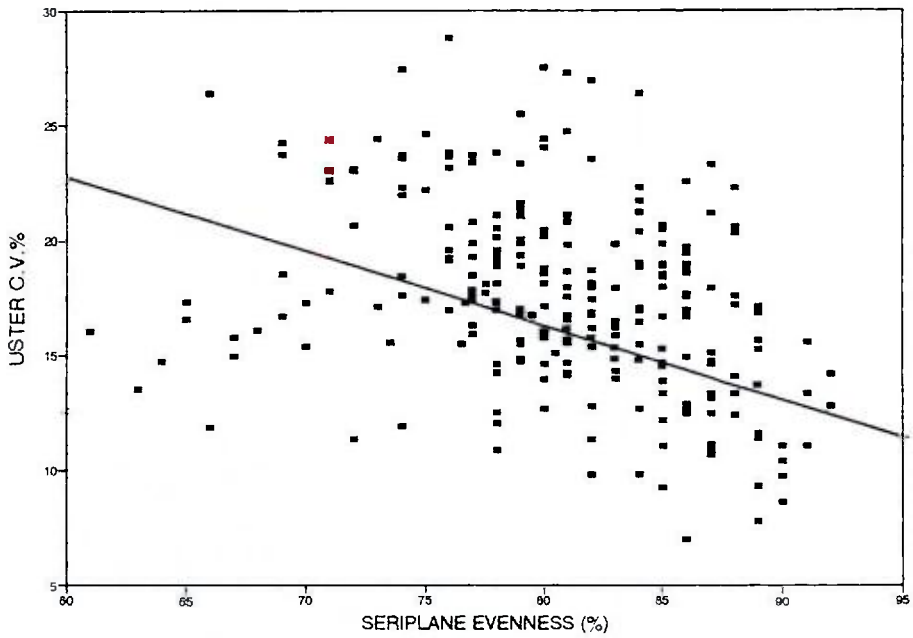


Fig. 1: Sériplane evenness versus Uster CV %

Fig. 1 : Régularité sur sériplane par rapport au CV par test Uster.

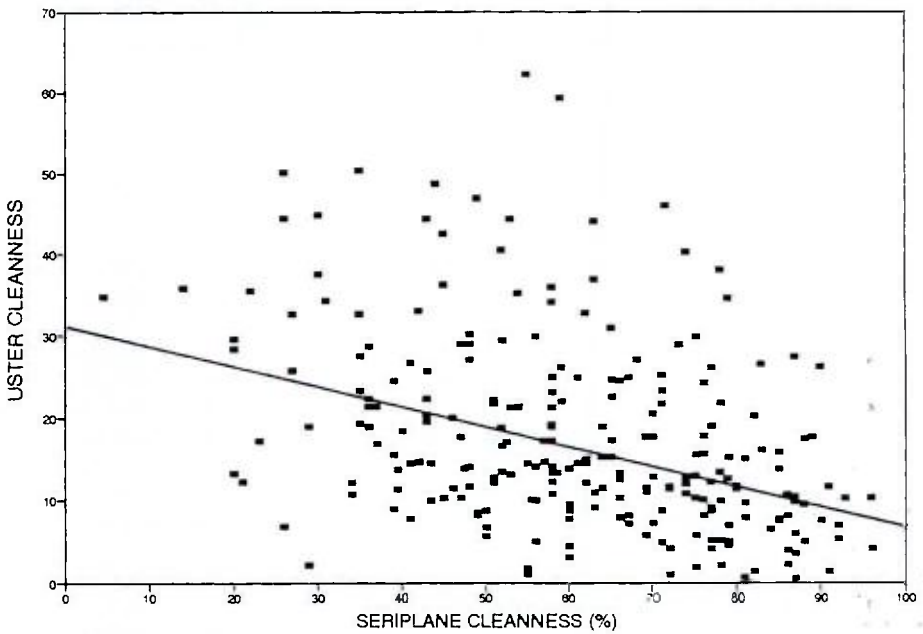


Fig. 2: Sériplane cleanness vs. Uster cleanness.

Fig. 2 : Propreté par Sériplane par rapport à la propreté par test Uster.

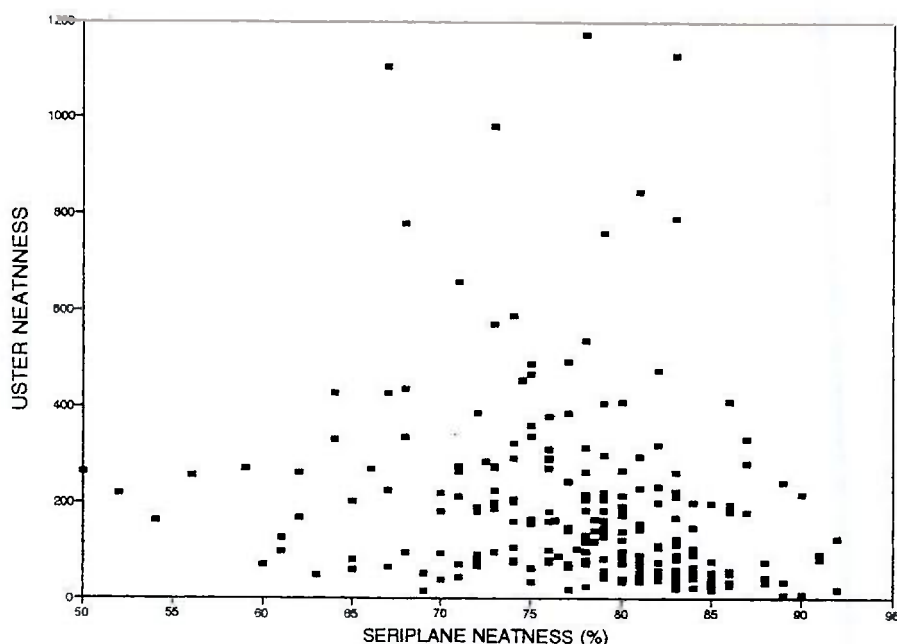


Fig. 3: Seriplane neatness vs. Uster neatness.

Fig. 3 : Netteté par Sérplane par rapport à la netteté par test Uster.

In this pursuit, it is pertinent to discuss the following points to recommend the suitability of either methods.

A. Advantages of Seriplane testing:

Seriplane test is a conventional method, to which the people in the silk industry have been accustomed over the years. Some of the distinct advantages of Seriplane assessment can be summarised as follows:

i. The evenness test gives an indication of sharp and erratic changes of sizes within a short length of raw silk filament by grasping the degree of these changes, which is very important. The weavers encounter processing problems when a filament shows erratic changes even when it is for a limited length of yarn in a skein.

ii. The classification of the kinds of cleanness defects like slugs, long knots, loops, waste, bad casts, etc., is very useful to both the raw silk producers and the consumers. The knowledge of these kinds of defects will help the reelers to take the necessary precautions or effect modifications to produce better quality raw silk from the same cocoon on the one hand, it will help the raw silk consumer to choose a lot out of the lots of the same grade but better suited for the products he is producing on the other.

iii. Seriplane indicates the degree of neatness defects and its distribution, and particularly low neatness indicates the concentration of neatness defects.

B. Disadvantages of Seriplane testing:

i. It is a subjective technique and therefore the reproducibility and reliability are reduced due to human error.

ii. The limitation imposed on the upper limit of the number of boards that can be evaluated by an estimator due to the fatigue factor and consequently inaccurate assessment.

iii. The standard photographs used for comparing the samples is the same, irrespective of the denier of the silk under test.

iv. The standard photographs invariably are suitable for bivoltine raw silk produced in the organised filatures. This shall raise certain problems while testing multivoltine silk because of the differences in visual effect. This factor is all the more relevant to Indian lots.

v. It needs a highly skilled and experienced estimator.

Table I. Details of the statistical analysis.

Tableau I. Analyse statistique détaillée.

Particulars	Evenness versus Uster CV %	Cleanness versus Uster cleanness	Neatness versus Uster neatness
<i>Paramètres</i>	<i>Régularité par rapport au CV Uster</i>	<i>Propreté par rapport à la propreté Uster</i>	<i>Netteté par rapport à la netteté Uster</i>
Correlation coefficient <i>Coefficient de corrélation</i>	-0.45*	-0.37*	-0.24
Coefficient of determination <i>Coefficient de détermination</i>	0.204	0.14	0.057
Equation for the line of regression <i>Equation pour la droite de régression</i>	$y = 42.65 - 0.314(x)$	$y = 32.04 - 0.239(x)$	$y = 64.83 - 5.9$

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

C. Advantages of Uster tester:

i. It provides an objective evaluation of the quality parameters and the factor of human error is minimised.

ii. It enhances the reproducibility and reliability of test results.

D. Disadvantages of Uster tester:

i. The equipment is able to measure the variation in capacitance resulting from the variation in weight/unit length or the cross section and as such has no means of detecting some of the defects typical to raw silk which neither reflect on the weight nor on the cross section of the yarn.

ii. The short-term variation in size, i.e., evenness, is not clearly indicated by the CV %, since the CV % gives the overall variation which includes long-term as well as short-term variations.

iii. The tester cannot distinguish the kind of cleanness defects, the knowledge of which would be very helpful for the raw silk producers as well as the consumers.

iv. The Uster tester does not indicate the degree/distribution of the neatness defects. Further, it does not differentiate neatness defects such as loops and loose ends which are due to the cocoons and reeling techniques from exfoliation which is due to the fine fibres generated in the silk glands of silkworms. It is considered that there does not exist any significant correlation between neatness and exfoliation (ISA, 1987).

CONCLUSION

After considering the advantages and disadvantages of the two methods, it may be stated that the advantages of Uster tester outweigh its disadvantages in 'quality control' to give a fairly good idea about the evenness and cleanness characteristics of raw silk to serve the intended purpose. However, data required for 'process control' in silk reeling is given by Seriplane test.

Especially in view of the good correlation for evenness and a fair correlation for cleanness, assessment of these two characteristics of raw silk may be done on Uster evenness tester with a reasonable accuracy. The absence of any correlation between the neatness assessed by means of these two methods demands a detailed analysis as to the manner in which Uster tester detects the neatness defects present in the raw silk.

Coming to the present situation of raw silk testing and grading and its utility in India, raw silk testing is almost non-existent here. The small percentage of testing that does take place is only like a post-mortem that neither reaches the producer as a feedback nor the consumer for meaningful analysis. Since by the time the test results reach their hands, probably the entire lot would be through the manufacturing process. In such a situation, it may be premature to infer that Uster tester is unsuitable to Indian conditions, as done by countries like Japan and China.

Even when we envisage the full-fledged functioning of the silk conditioning and testing houses established by the Central Silk Board, catering to the requirements of quality control would be more than adequate. The Uster tester would also be ideal for commercial testing of raw silk before transaction since it can provide a fairly reasonable estimate quite fast.

Although there is no one-to-one correspondence between the two sets, there definitely exists a fairly good trend in the case of evenness and cleanness. Based on the strength of relationship between the two sets of values it may be appropriate to revise the grading to facilitate universal acceptance.

To meet the demands of process control when the need arises, Seriplane test may be used to go into the anatomy of evenness, cleanness and neatness defects to unearth the impediments in achieving good quality in spite of the care taken based on the feedback of quality control.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors place on record the encouragement and guidance given by Shri T.N. Sonwalkar, Director (Retd.), CSTRI.

The authors also wish to thank Dr T.H. Somashekar, Director, CSTRI, for his kind encouragements and the facilities extended in carrying out this work. The authors are thankful to Shri N. Nataraj, Deputy Director (Statistics), CSB, for his help in the statistical analysis of the results.

REFERENCES

- FREITAG R. (1982) Reproducibility of results obtained by physical testing of raw silk 20/22 den. Lecture held at the 15th Congress of the International Silk Association, Sept. 20-24, London.
HATTENSCHWILER P., PAUER J. (1979) Raw Silk. Published by Zellweger Uster, Switzerland.
ISA (1952) Book of Standards. Published by the International Silk Association.
ISA (1987) Document on Directing Board Session. International Silk Association, Hangzhou, May 7-9.

EVALUATION COMPARATIVE DES CARACTERISTIQUES DE LA SOIE GREGE PAR ESSAI SUR SERIPLANE ET SUR UN APPAREIL DE CONTROLE DE REGULARITE USTER

S.L. CHILAKWAD, B.V. VASUMATHI, B.N. LAKSHMIPATHAIAH & G.S. NADIGER

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, Inde.

L'évaluation des caractéristiques de qualité de la soie grège, qui comprennent la régularité, la netteté et la propreté, est effectuée actuellement par la méthode subjective, c'est-à-dire sur sèriplane. Nous avons tenté de réaliser une évaluation objective de ces caractéristiques à l'aide d'un compteur électronique. L'appareil Uster pour la soie grège est un instrument de mesure électronique qui permet de déterminer les variations du poids par unité de longueur dans le matériel testé à l'aide d'un système de mesure de capacitance. Environ 250 lots de soie grège (polyvoltine et bivoltine) de différentes sources ont été testés. Une analyse de régression détaillée a été réalisée. Dans cet article, les données expérimentales sur la qualité de la soie indienne sont discutées en fonction des possibilités d'application de la méthode présentée.

INTRODUCTION

La soie est l'une des premières matières textiles dont la qualité est testée sur sèriplane. L'essai au sèriplane a essentiellement pour but d'évaluer les caractéristiques de régularité, de netteté et de propreté de la soie grège dans des conditions d'éclairage standard et selon des règles spécifiques d'évaluation subjective de ces paramètres.

a) Les variations de régularité sont les portions défectueuses de fil de soie grège se révélant, sur un tableau d'inspection, par des rayures causées par des variations de titre d'un degré tel qu'elles sont facilement reconnaissables à l'inspection visuelle. Le degré de telles variations de titre est appelé intensité de variation. Des standards ont été établis afin d'évaluer l'intensité des variations et traduits sur les photographies de variation standard.

b) Les défauts de propreté sont répartis en trois groupes principaux, à savoir : défauts super-majeurs, majeurs et mineurs. Les photographies standard de ces défauts de propreté sont utilisées pour comparer chaque défaut de l'échantillon. Les défauts sont comptés et répartis dans les classes super-majeure, majeure et mineure selon les photographies standard, ce qui sanctionne l'échantillon en fonction des résultats.

c) Les imperfections plus petites que celles classées dans les défauts mineurs sont appelées défauts de netteté. Les photographies standard de netteté comprennent des panneaux de soie grège ayant des valeurs de netteté différentes avec lesquels sont comparés et évalués les panneaux testés (ISA, 1952).

L'appareil Uster pour la soie grège est un instrument de mesure électronique qui permet de déterminer les variations de poids par unité de longueur dans le matériel testé à l'aide d'un système de mesure de capacitance (Hattenschwiler et Pauer).

La régularité déterminée par l'appareil Uster est une mesure des variations en coupe transversale du fil sur sa longueur jusqu'à environ 20 m. Cet instrument permet de repérer les déviations courtes du denier (degré de variation de la régularité). L'indicateur d'imperfections de l'appareil Uster dénombre les imperfections appelées propreté et netteté présentes dans le fil. Les résultats obtenus à l'aide de l'indicateur de propreté sont répartis en deux classes, à savoir : «défauts courts» et «défauts

longs », ces classes correspondent respectivement à peu près aux défauts de propreté mineurs et majeurs (Freitag, 1982).

Les pays producteurs et consommateurs se sont fortement opposés à la proposition de test par méthode électronique. Les pays dont la sériciculture est bien développée, à savoir le Japon et la Chine, ont refusé cette nouvelle méthode. En tout état de cause, il a semblé nécessaire d'étudier la capacité de prévision de la méthode électronique et son adaptation aux conditions indiennes.

MATERIELS ET METHODES

Deux cent cinquante lots de soie grège polyvoltine et bivoltine commercialisée ont été sélectionnés pour cette étude. Les échantillons de flottes de soie grège ont été dévidés sur des bobines et leur titre a été déterminé. Les bobines ont ensuite été testées au sériplane afin d'évaluer la régularité, la netteté et la propreté de la soie grège selon les méthodes standard. Ces bobines ont également été utilisées pour évaluer ces mêmes caractères sur un appareil Uster IS. Chaque bobine est soumise à un test de 2,5 minutes à la vitesse de 400 m par minute, soit une longueur totale d'essai de 1 000 m par bobine. Chaque lot comportant en moyenne 10 bobines, 10 000 m ont été testés au total dans chaque lot. La durée d'essai de 10 bobines est de 25 minutes avec une durée de réalimentation et de réglage d'environ 10 minutes. La durée totale de l'essai pour un lot de 10 bobines est donc de 35 minutes.

Deux planches sériplanes ont été construites à partir de 10 bobines, soit deux panneaux par bobine, et 20 panneaux ont été évalués. Les durées de dévidage et d'évaluation des deux panneaux sont d'environ 20 et 15 minutes respectivement, la durée totale d'essai d'un lot de 10 bobines s'élève donc à 35 minutes.

Les deux séries de données sur la régularité, la netteté et la propreté, l'une obtenue au sériplane et l'autre sur l'appareil Uster, ont ensuite été analysées statistiquement à l'aide d'un ensemble SPSS. Des analyses détaillées de corrélation et de régression ont été réalisées afin de déterminer le niveau de relation entre les deux séries de valeurs et d'évaluer la possibilité de prévision d'une série de valeurs à partir de l'autre série. On a tracé la droite la mieux ajustée par rapport aux nuages de points obtenus pour la régularité par rapport au coefficient de variation Uster, la propreté par rapport à la propreté Uster et la netteté par rapport à la netteté Uster.

On a également calculé le coefficient de corrélation, le coefficient de détermination, l'équation la mieux adaptée à la droite de régression et le test de signification.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les figures 1 et 2 présentent respectivement la répartition des points et la droite la mieux ajustée pour la régularité par rapport au coefficient de variation Uster et pour la propreté par rapport à la propreté Uster ; la figure 3 présente la répartition des points pour la netteté par rapport à la netteté Uster. Le tableau 1 donne les résultats obtenus pour le coefficient de corrélation, le coefficient de détermination et l'équation la mieux adaptée pour la droite de régression ainsi que le test de signification.

Les diagrammes en nuages de points (Fig. 1 et 2) pour la régularité et la netteté montrent clairement qu'il y a une corrélation négative entre les deux méthodes d'essai tandis que le diagramme concernant les valeurs de netteté (Fig. 3) ne fait apparaître aucune corrélation entre ces deux méthodes.

Le coefficient de corrélation entre la régularité au sériplane et le coefficient de variation Uster est de -0,45, ce qui indique une corrélation raisonnable à un seuil de signification de 0,1 %.

Le coefficient de corrélation entre la propreté au sériplane et la propreté Uster (longue et courte) est de -0,37 : bien qu'il soit très faible par rapport à celui obtenu pour la régularité, la tendance est effectivement présente. Le coefficient de corrélation est significatif à 0,1 %.

Cependant, on observe une absence notoire de relation entre les deux séries de valeurs pour ce qui concerne la netteté. Ceci nécessite une analyse plus approfondie afin d'élucider les causes de cette disparité.

En deuxième analyse, les diagrammes en nuages de points (Fig. 1 et 2) font apparaître des informations intéressantes. Dans la figure 1, on peut voir que la corrélation pour la régularité est meilleure pour la fourchette située entre 70 % et 90 % tandis que la corrélation pour la propreté Uster

et la propreté au sériplane est meilleure pour la fourchette située entre 40 % et 90 % que pour l'ensemble de l'échelle, comme le montre la figure 2. Ceci implique que la réponse des appareils Uster à la détection des défauts de régularité et de netteté pour une fourchette partielle est meilleure que celle obtenue pour l'ensemble du spectre.

Au vu de ces résultats, il convient de discuter les points suivants afin de déterminer les mérites de ces deux méthodes.

A. Avantages du test au sériplane :

Le test au sériplane est une méthode conventionnelle à laquelle les techniciens travaillant dans la filière soie se sont accoutumés depuis de nombreuses années. Les principaux avantages de l'évaluation au sériplane peuvent se résumer comme suit :

1. L'essai de régularité permet de mettre en évidence les variations brusques et irrégulières du titre sur une courte longueur du fil de soie grège en saisissant le degré de ces variations, ce qui est fondamental. Les tisseurs sont confrontés à des problèmes de traitement lorsque la bave présente des variations irrégulières du titre même sur une longueur limitée de fil dans une flotte.

2. La classification des types de défauts de propreté comme les petites costes, les longs nœuds, les boucles, les déchets, les bouts mal jetés, etc., est très utile, tant pour les producteurs de soie grège que pour les consommateurs. La connaissance de ces types de défauts aide, d'une part, le fileur à prendre les précautions nécessaires ou à procéder à des modifications afin de produire de la soie grège de meilleure qualité à partir d'un même cocon et permet, d'autre part, au consommateur de soie grège de choisir, parmi plusieurs lots de même grade, le lot le mieux adapté aux produits qu'il fabrique.

3. Le sériplane indique le degré des défauts de netteté ainsi que leur répartition ; une netteté particulièrement faible indique une concentration des défauts de netteté.

B. Désavantages du test au sériplane :

1. C'est une technique subjective et, de ce fait, la reproductibilité et la fiabilité sont réduites en raison de l'erreur humaine.

2. Le nombre de tableaux pouvant être évalués par un opérateur est limité du fait de la fatigue qui entraîne une évaluation inexacte.

3. Les photographies standard utilisées pour comparer un échantillon sont les mêmes quel que soit le denier de la soie testée.

4. Les photographies standard se rapportent systématiquement à la soie grège bivoltine produite dans les filatures organisées. Ceci ne va pas sans poser certains problèmes lors de l'évaluation de la soie polyvoltine du fait des différences d'effet visuel. Ce phénomène est d'autant plus vrai pour les lots indiens.

5. Cette méthode nécessite un opérateur hautement qualifié et expérimenté.

C. Avantages du test Uster :

1. Il permet une évaluation objective des paramètres de qualité et minimise le risque de l'erreur humaine.

2. Il permet d'améliorer la reproductibilité et la fiabilité des résultats des tests.

D. Désavantages du test Uster :

1. Cet appareil est capable de mesurer les variations de capacitance dues à la variation du poids par unité de longueur ou en coupe transversale et, de ce fait, ne permet pas de détecter certains des défauts caractéristiques de la soie grège qui n'apparaissent ni dans le poids ni en coupe transversale du fil.

2. Les déviations courtes du titre, c'est-à-dire la régularité, ne sont pas clairement indiquées par le coefficient de variation puisque celui-ci donne la déviation globale qui comprend à la fois les déviations courtes et les déviations longues.

3. L'appareil ne distingue pas les catégories de défauts de propreté, point qu'il serait très utile de connaître tant pour les producteurs que pour les consommateurs.

4. L'appareil Uster n'indique pas le degré et/ou la répartition des défauts de netteté. De plus, il ne distingue pas les différents défauts de netteté tels que bouclettes et bouts volants provenant du

cocon des techniques de dévidage de l'exfoliation qui est provoquée par des fibres fines produites dans les glandes séricigènes des vers à soie. On admet qu'il n'existe pas de corrélation significative entre la netteté et l'exfoliation (ISA, 1987).

CONCLUSION

Compte tenu des avantages et inconvénients des deux méthodes, il apparaît que l'appareil Uster présente plus d'avantages que d'inconvénients pour le contrôle de la qualité, il permet de donner une image assez exacte des caractéristiques de régularité et de propreté de la soie grège et atteint donc le but recherché. Cependant, les données nécessaires pour le contrôle du processus de dévidage de la soie sont obtenues par le test au sériplane.

Etant donné la corrélation satisfaisante pour la régularité et la corrélation assez bonne pour la propreté, ces deux caractéristiques de la soie grège peuvent être évaluées de manière raisonnablement exacte sur un appareil de régularité Uster. L'absence de corrélation entre les deux méthodes pour la netteté nécessite un complément d'analyse afin de déterminer comment l'appareil Uster détecte les défauts de netteté présents dans la soie grège.

Pour ce qui concerne la situation actuelle des méthodes d'essai et de classification de la soie grège et leur utilité en Inde, celles-ci sont pratiquement inexistantes dans ce pays. Le faible pourcentage d'essais réalisés équivaut à une autopsie dont les résultats ne sont ni retournés au producteur ni transmis au consommateur pour analyse constructive puisque, au moment où les résultats des tests leur parviennent, la totalité du lot a été utilisé pour la fabrication. Dans ces conditions, il est prématuré d'en conclure que l'appareil Uster n'est pas adapté aux conditions indiennes, comme l'ont fait d'autres pays comme le Japon et la Chine.

Si l'on considère les équipements complets des établissements d'essais et de conditionnement de la soie grège créés par le *Central Silk Board*, entièrement équipés, toutes les facilités sont réunies pour répondre aux conditions de contrôle de la qualité. L'appareil Uster serait également idéal pour l'essai de la soie grège à l'échelle commerciale avant transaction car il permet une évaluation rapide et raisonnablement fiable.

Bien qu'il n'existe pas de correspondance bijective entre les deux séries de valeurs, il existe effectivement une tendance assez bonne pour ce qui concerne la régularité et la netteté. Sur la base de la force de la relation entre les deux séries de valeurs, il serait approprié de réviser les méthodes de gradation afin de les rendre acceptables par tous.

Afin de répondre aux exigences du contrôle du traitement en fonction des besoins, le test au sériplane peut être utilisé pour étudier les caractéristiques des défauts de régularité, de propreté et de netteté et mettre en évidence les points qui font obstacle à l'obtention d'une bonne qualité même lorsque les recommandations données pour le contrôle de la qualité sont suivies avec soin.

STUDIES ON THE ANTIGENIC DIFFERENCE OF KENCHU VIRUSES ISOLATED FROM THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., IN KARNATAKA, INDIA

C.S. PATIL¹, K.D. SPENCE², S. GURUSIDDAIAH³ & T.R. KYRIAKIDES²

1. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore - 560 062, India.
2. Department of Microbiology, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.
3. Bioanalytical Center, Washington State University, Pullman, WA, 99164-4233, USA.

The results of amino acid analysis of Bng KV-I and Bng KV-II viruses revealed that both contained more acidic than basic amino acids. The Western blot preparation with anti-Bng KV-I antibody suggests that both viruses are antigenically different.

Keywords: Kenchu virus, antigenic difference, silkworm, *Bombyx mori* L.

In a previous paper, Patil *et al.* (1992a, 1992b) have reported the isolation and characterization of two strains of Kenchu viruses termed Bng KV-I and Bng KV-II. In this paper, we report the antigenic difference of these two viruses.

The viruses purified by Patil *et al.* (1992a, 1992b) were used in the experiments. The protein concentration of purified viruses was determined following the method of Lowry *et al.* (1951). Amino acid composition of both viruses was done from hydrolysates of virus samples following the method of Spackman *et al.* (1958) using a Beckman automatic amino acid analyzer in the Bioanalytical Center, Washington State University, USA. The polyclonal antibodies for Bng KV-I virus were prepared as described previously (Minnick and Spence, 1988) using an adult male New Zealand white rabbit and stored at -20 °C. The viruses were dissociated by suspending in a sample buffer containing 0.125 M Tris, pH 6.8; 4% SDS, 20% glycerol; 0.02% bromophenol blue and with 2-mercaptoethanol (2-ME). The polypeptides of the virions were separated on 12% SDS PAGE, as described by Hui and Hurlbert (1979). One set of gel was fixed in acetic acid-methanol-water and stained with Coomassie brilliant blue. The other unfixed, unstained gel was blotted onto nitrocellulose paper (Towbin *et al.*, 1979). The blotted paper was exposed to rabbit anti-Bng KV-I antibodies for 3 hr at room temperature; treated with HRP conjugated with goat anti-rabbit IgG antiserum (Bio-Rad) for 2 hr and developed with O-dianisidine and 30% hydrogen peroxide.

Previously we have studied the properties of Bng KV-I and Bng KV-II viruses separately (Patil *et al.*, 1992a, 1992b). A clear difference in the electrophoretic patterns of both virus polypeptides was observed (Table I). Further, the amino acid composition of viruses showed more acidic than basic, which is similar to the results obtained for the flacherie virus (Hashimoto and Kawase, 1983). However, the amino acid compositions of Bng KV-I and Bng KV-II are not identical, suggesting that both viruses are different (Table II).

Moreover, the different nature of these viruses was further confirmed by the protein immunoblotting method. The results showed that the Bng KV-I antibody reacted with only the Bng KV-I virus but not with the Bng KV-II virus (Fig. 1). Lack of this antigenic similarity strongly supports the assumption that Bng KV-I and Bng KV-II are two different strains of viruses infecting silkworms and causing a Kenchu disease in Karnataka, India.

Table I. Comparison of properties of viruses.
Tableau I. Comparaison des propriétés des virus.

Properties / Propriétés	Bng KV-I	Bng KV-II
Virus particle size (nm)	18.46 ± 0.16	26.01 ± 0.53
Taille des particules virales (nm)	27.80 ± 0.79	28.88 ± 0.49
Buoyant density (g/cm ³) / Densité de flottement (g/cm ³)	1.41; 1.47	1.41, 1.45; 1.5
Sedimentation coefficient / Coefficient de sédimentation	ND	103 S20 (obs)
No. of polypeptides on SDS PAGE	2	2
Nombre de polypeptides sur PAGE SDS		
Molecular weight of polypeptides (KD)	72; 75.5	52; 58.5
Poids moléculaire des polypeptides (KD)		
Immunoblot reaction* / Immunoempreinte*	positive	negative

ND: Not determined / Non déterminé.

* Antibody raised against Bng KV-I virus / Anticorps préparé contre le virus Bng KV-I.

Table II. Amino acid compositions of viruses.
Tableau II. Composition en acides aminés des virus.

Amino acids Acides aminés	Bng KV-I	Bng KV-II
Gly	13.87	14.23
Asp	10.49	13.07
Glu	9.12	9.75
Val	8.24	6.77
Ala	7.77	6.80
Leu	7.62	6.83
Lys	5.45	4.51
Phe	5.43	4.71
Tyr	5.41	3.45
Ill	5.03	6.71
Ser	4.87	3.94
Pro	4.64	5.21
Arg	4.25	5.88
Thr	3.97	5.09
Met	2.54	1.39
His	1.30	1.76
Cys	ND	ND

Data are expressed as % nanomoles / Les données sont exprimées en pourcentage de nanomoles.

ND: Not determined / Non déterminé.


Fig. 1: Immunoblot preparation of dissociated Bng KV-I virus and Bng KV-II virus.

Lane 1: Bng KV-I virus immunoblot, positive reaction
Lane 2: Bng KV-II virus immunoblot, negative reaction.

Fig. 1 : Immunoempreinte des virus Bng KV-I et Bng KV-II dissociés.

Puits 1 : Immunoempreinte du virus Bng KV-I, réaction positive.

Puits 2 : Immunoempreinte du virus Bng KV-II, réaction négative.

REFERENCES

- HASHIMOTO Y., KAWASE S. (1983) Characteristics of structural proteins of infectious flacherie virus from silkworm, *Bombyx mori* L. J. Invertebr. Pathol., 41, 68-76.
- HUI J.M., HURLBERT R.E. (1979) Modifiable chromatophore in photosynthetic bacteria. J. Bact., 138, 207-217.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- MINNICK M.F., SPENCE K.D. (1988) Tissue site and modification of a bacteria-induced coagulation proteins from *Manduca sexta*. Insect Biochem., 18(7), 637-644.
- PATIL C.S., SPENCE K.D., GURUSIDDAIAH S., KYRIAKIDES T.R., DANDIN S.B. (1992a) 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.
- PATIL C.S., SPENCE K.D., GURUSIDDAIAH S., KYRIAKIDES T.R., DANDIN S.B. (1992b) Studies on the Kenchu virus disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. II. Purification and properties of Bng KV-II virus. Sericologia, 32(3), 369-378.
- SPACKMAN D.M., STEIN W.H., MOORE S. (1958) Automatic recording apparatus for the use in chromatography of amino acids. Analytical Chem., 30, 1190-1206.
- TOWBIN H. STAEHELIN T., GORDON J. (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 76, 4350-4354.

ETUDES SUR LA DIFFERENCE ANTIGENIQUE DE VIRUS KENCHU ISOLES DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L., AU KARNATAKA, INDE

C.S. PATIL¹, K.D. SPENCE², S. GURUSIDDAIAH³ & T.R. KYRIAKIDES²

1. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura - Road, Bangalore 560 062, Inde.
2. Department of Microbiology, Washington State University, Pullman, WA. 99164-4233, USA.
3. Bioanalytical Center, Washington State University, Pullman, WA. 99164-4233, USA.

Les résultats de l'analyse en acides aminés des virus Bng KV-I et Bng KV-II révèlent qu'ils contiennent tous les deux plus d'acides aminés acides que basiques. L'analyse par transfert d'empreinte (Western) avec l'anticorps anti-Bng KV-I suggère que les deux virus sont différents de par leurs antigènes.

Dans un article antérieur, Patil et coll. (1992a, 1992b) ont fait part de l'isolement et de la caractérisation de deux souches du virus Kenchu, dénommés Bng KV-I et Bng KV-II. Dans cet article, nous exposons la différence antigenique de ces deux virus.

Les virus purifiés par Patil et coll. (1992a, 1992b) sont utilisés pour ces expériences. Nous déterminons la concentration en protéines des virus épurés en suivant la méthode de Lowry et coll. (1951). La composition en acides aminés des deux virus est déterminée à partir d'hydrolysats d'échantillons de virus d'après la méthode de Spackman et coll. (1958) en utilisant un analyseur automatique d'acides aminés Beckman au Centre Bioanalytique de l'Université d'Etat de Washington, USA. Nous préparons les anticorps polyclonaux pour le virus Bng KV-I d'après une méthode présentée antérieurement (Minnick et Spence, 1988) en utilisant un lapin blanc adulte mâle de Nouvelle-Zélande et les conservons à -20° C. Les virus sont dissociés par suspension dans un tampon d'échantillon contenant 0.125 M d'aminométhane, pH 6,8 ; 4 % SDS, 20 % de glycérol ; 0,02 % de bleu bromophénol et du 2-mercaptoéthanol (2-ME). Nous séparons les polypeptides des virions par SDS PAGE 12 %, d'après la description de Hui et Hurlbert (1979). Nous fixons un lot de gels dans de l'acide acétique méthol - eau et le colorons avec du bleu de Coomassie. L'autre gel, non fixé et non coloré est buvardé sur du papier de nitrocellulose (Towbin et coll., 1979). Nous exposons le papier buvard aux anticorps anti-Bng KV-I du lapin pendant 3 heures à température ambiante puis le traitons avec de la peroxydase conjugué à du sérum de chèvre anti IgG de lapin pendant 2 heures (Bio-Rad) et le développons avec de l'O-dianisidine et 30 % d'eau oxygénée.

Nous avons déjà étudié séparément les propriétés des virus Bng KV-I et Bng KV-II (Patil et coll., 1992a, 1992b). Nous observons une différence évidente des profils électrophorétiques des polypeptides des deux virus (Tableau I). En outre, la composition en acides aminés des virus présente plus d'acides aminés acides que de basiques, ce qui est semblable aux résultats obtenus pour le virus de la flacherie (Hashimoto et Kawase, 1983). Cependant, les compositions en acides aminés de Bng KV-I et de Bng KV-II ne sont pas identiques, ce qui suggère que les deux virus sont différents (Tableau II).

De plus, la nature différente de ces virus est confirmée par la méthode d'immunoempreinte des protéines. Les résultats montrent que l'anticorps Bng KV-I réagit seulement avec le virus Bng KV-I mais non pas avec le virus Bng KV-II (Fig. 1). L'absence de similitude antigénique soutient fortement l'hypothèse selon laquelle Bng KV-I et Bng KV-II sont deux souches différentes du virus qui contaminent les vers à soie et qui sont responsables de la maladie Kenchu au Karnataka, en Inde.

STUDIES ON STIGMA RECEPTIVITY IN MULBERRY (*MORUS* SPP.)

K. VIJAYAN, A. TIKADER, B.N. ROY, S.M.H. QADRI & T. PAVAN KUMAR

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

*Stigma receptivity in mulberry (*Morus* spp.) was studied with two female parents, i.e., varieties Kanva-2 and MIHP, and one male parent, S162. The stigma was receptive from the 4th to the 16th day in MIHP and from the 4th to the 20th day in Kanva-2 variety. The seed-setting percentage was found to be higher in open-pollinated conditions than that of control crosses. Single pollination was quite effective, resulting in appreciable seed setting if done at a suitable time. A positive correlation of 0.79 was observed between sorosis weight and number of seed/sorosis.*

Keywords: Mulberry, stigma receptivity, pollen viability, pollination index.

INTRODUCTION

Sericulture's success depends on the production of higher quality cocoons, which in turn depends on the availability of good quality leaves. Mulberry being the sole food of the silkworm (*Bombyx mori* L.), there has always been a demand for a better variety as a source of quality leaves. Efforts directed towards evolving a new mulberry variety, therefore, are aimed at bringing desirable characters together in a single phenotype, this being possible through hybridisation among desirable selected genotypes. There are reports on anthesis, sex expression (Das *et al.*, 1970; Jolly *et al.*, 1986; Tiku *et al.*, 1988) and the effects of repeated pollination in the mulberry (Kumar *et al.*, 1992), emphasising their role in hybridisation. But not much information is available on stigma receptivity in the mulberry, which plays a vital role in successfully producing a cross carried out under controlled conditions. The present study has, therefore, been conducted to find out an effective stigma receptivity period and other aspects following pollination in the mulberry.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted during the normal flowering period, i.e., February-March 1994. Two varieties, namely, MIHP and Kanva-2, were selected as female parents and S162 as male parent. Female inflorescences were covered with paper bags just after their emergence from the scale leaves. Pollen grains were collected from male catkins in a Petri dish during the dehiscence of anthers. Pollen grain viability was tested with the help of 0.5% acetocarmine, and confirmed by the germination of pollen grains with 2% sucrose solution by the hanging drop method (Das *et al.*, 1970). Only pollen grains having high viability of 88-90% were used in this study. In order to avoid contamination with other pollens, pollination was carried out with the help of a 'pollen gun' (Mukherjee, 1965). Single pollination was carried out each time starting from the 4th day of bagging and continued every alternative day up to the 24th day. In each treatment, 10 bags covering 10 catkins of the same age were used. Apical buds and immature inflorescences were clipped off to ensure uniformity in treatment. Some bags were left undisturbed to study the extent of parthenogenesis. Fruits were harvested after ripening and observations on length, diameter and weight of soroses as well as number of achenes per sorosis were recorded. Achenes were separated individually and the seeds were collected to calculate the percentage of seed setting. The pollination index (PI) was calculated by

following the method of Visser and Marcucci (1983). Correlation studies were undertaken between the sorosis weight and number of seeds/sorosis and the sorosis length and number of seeds/sorosis.

RESULTS AND DISCUSSION

The two varieties, Kanva-2 and MIHP, studied here did not differ much with 22-23 days to fruit ripening following pollination. No fruit formation was observed in unpollinated sorosis through parthenogenesis, which confirms previous findings (Das and Krishnaswami, 1965). Fruit formation was observed in bags pollinated from the 4th to the 16th day and from the 4th to the 20th day in Kanva-2 (Table I). No fruit formation was observed in bags pollinated after the 16th day in MIHP

Table I. Effect of stigma receptivity on pollination in mulberry.

Tableau I. Effet de la réceptivité des stigmates sur la pollinisation chez le mûrier.

Day of pollination	Sorosis length	Sorosis breadth	Sorosis weight	No. of achenes /sorosis	No. of seeds /sorosis	Pollination index (PI)
<i>Jour de pollinisation</i>	<i>Longueur des soroses</i>	<i>Largeur des soroses</i>	<i>Poids des soroses</i>	<i>Nombre d'akènes /sorose</i>	<i>Nombre de graines /sorose</i>	<i>Indice de pollinisation</i>
MIHP × S162						
Unpollinated	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
<i>Non pollinisé</i>						
4th / 4e	1.71 ± 0.04	0.86 ± 0.01	0.80 ± 0.03	31.1 ± 0.70	10.3 ± 0.43	33.70 ± 1.40
6th / 6e	2.57 ± 0.03	1.07 ± 0.02	1.02 ± 0.04	38.0 ± 0.70	20.7 ± 1.06	50.81 ± 2.24
8th / 8e	2.94 ± 0.03	0.99 ± 0.01	1.57 ± 0.06	46.3 ± 1.01	29.2 ± 1.14	61.78 ± 2.11
10th / 10e	2.59 ± 0.03	0.97 ± 0.01	1.24 ± 0.05	39.2 ± 0.44	23.0 ± 0.75	58.89 ± 1.82
12th / 12e	2.80 ± 0.03	1.02 ± 0.02	1.56 ± 0.04	43.2 ± 1.04	27.7 ± 0.98	64.91 ± 1.51
14th / 14e	2.38 ± 0.03	0.82 ± 0.01	0.69 ± 0.01	59.9 ± 0.90	25.2 ± 1.08	46.20 ± 2.23
16th / 16e	2.12 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0.54 ± 0.02	40.3 ± 1.10	12.6 ± 0.52	31.96 ± 1.18
18th / 18e	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
Open pollinated	3.13 ± 0.04	1.14 ± 0.01	1.40 ± 0.03	44.9 ± 0.72	39.4 ± 0.91	87.80 ± 0.92
<i>Pollinisation ouverte</i>						
Kanva-2 × S162						
Unpollinated	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
<i>Non pollinisé</i>						
4th / 4e	1.50 ± 0.04	0.81 ± 0.02	0.71 ± 0.02	26.8 ± 0.33	3.90 ± 0.27	15.21 ± 1.17
6th / 6e	2.07 ± 0.03	1.03 ± 0.01	0.88 ± 0.02	28.0 ± 0.66	13.10 ± 0.84	48.08 ± 2.89
8th / 8e	1.99 ± 0.08	0.96 ± 0.02	0.95 ± 0.02	23.8 ± 0.62	11.09 ± 0.57	48.14 ± 1.10
10th / 10e	1.78 ± 0.04	1.10 ± 0.02	0.87 ± 0.03	24.2 ± 0.53	10.10 ± 0.24	48.89 ± 1.48
12th / 12e	1.92 ± 0.02	1.04 ± 0.02	0.87 ± 0.03	22.6 ± 0.48	11.40 ± 0.57	48.77 ± 1.95
14th / 14e	1.99 ± 0.03	0.94 ± 0.01	0.57 ± 0.01	21.0 ± 0.33	10.40 ± 0.47	48.28 ± 1.89
16th / 16e	1.94 ± 0.03	0.76 ± 0.01	0.40 ± 0.04	25.9 ± 0.60	8.40 ± 0.59	32.03 ± 2.01
18th / 18e	1.83 ± 0.03	0.78 ± 0.01	0.41 ± 0.01	22.9 ± 0.39	3.20 ± 0.19	14.57 ± 1.03
20th / 20e	1.90 ± 0.02	0.75 ± 0.01	0.40 ± 0.01	21.3 ± 0.39	2.30 ± 0.42	10.65 ± 1.18
22nd / 22e	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
Open pollinated	1.83 ± 0.03	0.87 ± 0.01	0.67 ± 0.02	36.5 ± 0.05	30.70 ± 1.45	81.61 ± 1.45
<i>Pollinisation ouverte</i>						

and 20th day in Kanva-2, indicating loss of receptivity of stigma. However, in both varieties open-pollinated conditions showed higher pollination index (PI) than controlled crosses. This could be due to the variation in maturity of the florets within an inflorescence and delay in attaining receptivity at a time. Kumar *et al.* (1992) reported that repeated pollination improved seed setting in the mulberry crop. Similar results were also obtained by Visser and Verhaegh (1980), Visser and Marcucci (1983) and Devries and Dubois (1983) in apple, pear and rose, respectively. A positive correlation was observed between the sorosis weight and the number of seeds/sorosis (Table II), which supports the findings of Dandin *et al.* (1987). Thus, it is clear from the above observations that the receptivity of stigma in mulberry remains very high during the period starting from the 8th to the 12th day of floral initiation and that single pollination also leads to appreciable seed set although, as has been reported earlier, multiple pollination is a prerequisite (Kumar *et al.*, 1992).

Table II. Correlation between sorosis weight, number of seeds/sorosis, length of sorosis and number of achenes/sorosis.

Tableau II. Corrélation entre le poids d'une sorose, le nombre de graines/sorose, la longueur d'une sorose et le nombre d'akènes/sorose.

Sorosis weight / Poids d'une sorose	No. of seeds/sorosis / Nombre de graines/sorose	0.79**
Length of sorosis / Longueur d'une sorose	No. of seeds/sorosis / Nombre de graines/sorose	0.94**
No. of achenes/sorosis / Nombre d'akènes/sorose	No. of seeds/sorosis / Nombre de graines/sorose	0.84**

** Correlation significant for $P < 0.01$ / Corrélation significative à $P < 0.01$

n = 15

It was observed (Fig. 1) that the pollination index (PI) was on the lower side during early and late pollination periods while it was higher during the intermediate periods of 6 to 14 days, indicating higher receptivity of stigma in this period. The data further revealed a varietal difference in the receptivity of stigma which was higher in MIHP than in Kanva-2.

Thus the findings reported in the present paper could be of immense importance to mulberry germplasm maintenance, particularly in the case of some of the rare types as well as exotic lines where pollen grain availability becomes a limiting factor in conserving or utilising them in crossing programmes.

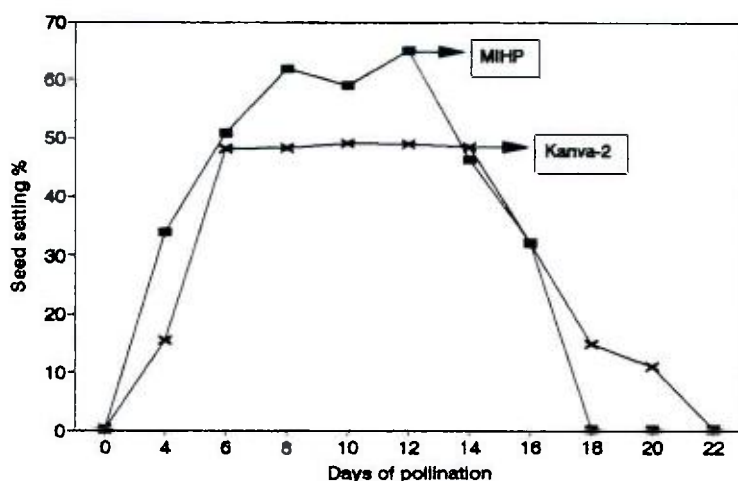


Fig. 1: Stigma receptivity in mulberry.

Fig. 1 : Réceptivité des stigmates chez le mûrier.

REFERENCES

- DAS B.C., KRISHNASWAMI S. (1965) Some observations on interspecific hybridization in mulberry. *Indian J. Seric.*, 4, 1-8.
- DAS B.C., PRASAD D.N., KRISHNASWAMI S. (1970) Studies on anthesis in mulberry. *Indian J. Seric.*, 9(1), 59-63.
- DANDIN S.B., KUMAR R., RABINDRAN S., JOLLY M.S. (1987) Crossability studies in mulberry. *Indian J. Seric.*, 24(1), 1-4.
- DEVRIES D.P., DUBOIS L.A.M. (1983) Pollen and pollination experiments. X: The effect of repeated pollination on fruit and seed set in crosses between the hybrid tea rose cultivars Sonia and Ilona. *Euphytica*, 32, 685-689.
- JOLLY M.S., DANDIN S.B., RABINDRAN S., KUMAR R. (1986) Sexual polymorphism in the genus, *Morus* L. *Proc. Ind. Acad. Sci. (Plant Sci.)*, 96(4), 315-320.
- KUMAR R., DANDIN S.B., RABINDRAN S., JOLLY M.S. (1992) Studies on reproduction biology of mulberry. II - The effect of repeated pollination on fruit and seed set. *Sericologia*, 32(1), 137-141.
- MUKHERJEE S.K. (1965) Breeding of mulberry in India by the use of a pollinator 'The Pollen Gun' (a new Japanese device). *Sci. and Cult.*, 31, 101-104.
- TIKU A.K., BINDROO B.B., PANDIT R.R. (1988) Flowering process and anthesis of mulberry under temperate climate conditions (Kashmir valley). *Sericologia*, 28(1), 49-56.
- VISSER T., VERHAEGH J.J. (1980) Pollen and pollination experiments. II: Influence of the first pollination on the effectiveness of the second in apple. *Euphytica*, 29, 385-390.
- VISSER T., MARCUCCI C.M. (1983) Pollen and pollination experiments. IX: The pioneer pollen effect in apple and pear related to the interval between pollination and the temperature. *Euphytica*, 32, 703-709.

ETUDE SUR LA RECEPTIVITE DES STIGMATES CHEZ LE MURIER (*MORUS*)

K. VIJAYAN, A. TIKADER, B. N. ROY, S.M.H. QADRI & T. PAVAN KUMAR

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

*On a étudié la réceptivité des stigmates de mûrier (*Morus*) chez deux parents femelles, Kanva-2 et MIHP, et un parent mâle, S162. Le stigmate est réceptif entre le 4e et le 16e jour chez MIHP et entre le 4e et le 20e jour chez Kanva-2. Le pourcentage de graines obtenu en pollinisation ouverte est supérieur à celui obtenu chez les croisements contrôlés. La pollinisation unique est tout à fait efficace et entraîne une bonne production de grains si elle est effectuée au moment approprié. On observe une corrélation positive de 0,79 entre le poids d'une sorose et le nombre de graines par sorose.*

INTRODUCTION

La réussite de la sériciculture dépend de la production de cocons de qualité supérieure qui est elle-même fonction de l'utilisation de feuilles de bonne qualité. Le mûrier étant la seule nourriture du ver à soie (*Bombyx mori* L.), il y a une demande constante de meilleures variétés pouvant servir de source de feuilles de qualité. Les efforts orientés vers l'isolement d'une nouvelle variété de mûrier visent donc à combiner les caractères recherchés dans un même phénotype ; ceci peut être obtenu par l'hybridation de génotypes sélectionnés prometteurs. Il existe des rapports sur l'anthèse, l'expression des sexes (Das et coll., 1970 ; Jolly et coll., 1986 ; Tiku et coll., 1988) et sur l'effet des pollinisations répétées chez le mûrier (Kumar et coll., 1992), mettant en évidence leur rôle dans l'hybridation. Cependant, on ne dispose que de peu d'informations sur la réceptivité des stigmates chez le mûrier, fonction qui joue un rôle vital dans la réussite des croisements réalisés dans des conditions contrôlées. Cette étude a donc été réalisée afin de déterminer la période de réceptivité efficace des stigmates ainsi que d'autres aspects rattachés à la pollinisation chez le mûrier.

MATERIELS ET METHODES

Cette expérience a été réalisée au cours d'une période normale de floraison, c'est-à-dire de février à mars 1994. Les variétés MIHP et Kanva-2 ont été choisies comme parents femelles et la variété S162 comme parent mâle. Les inflorescences femelles ont été recouvertes avec des sacs en papier dès leur émergence des bourgeons. Les grains de pollen ont été prélevés sur les chatons mâles pendant la déhiscence des anthères et déposés dans une boîte de Pétri. La viabilité des grains de pollen a été testée avec du carmin acétique à 0,5 % et confirmée par germination dans une solution de saccharose à 2 % selon la méthode de la goutte en suspension (Das et coll., 1970). On a utilisé uniquement les grains de pollen présentant une viabilité de 88 à 90 % pour cette étude. Afin d'éviter la contamination avec d'autres pollens, la pollinisation a été réalisée à l'aide d'un « pistolet à pollen » (Mukherjee, 1965). Pour chaque traitement, la pollinisation unique a été réalisée à partir du 4e jour après l'ensachage et poursuivie tous les deux jours jusqu'au 24e jour. Chaque traitement correspond à 10 sacs recouvrant 10 chatons du même âge. Les bourgeons apicaux et les inflorescences imminentes ont été sectionnés pour obtenir un traitement uniforme. Certains sacs ont été laissés intacts afin d'étudier l'étendue de la parthénogenèse. Les fruits mûrs ont été récoltés. Les observations portent sur la

longueur, le diamètre et le poids des soroses ainsi que sur le nombre d'akènes par sorose. Les akènes ont été séparés et les grains ont été prélevés afin de calculer le pourcentage de formation de grains. L'indice de pollinisation a été calculé selon la méthode de Visser et Marcucci (1983). On a effectué des analyses de corrélation entre le poids d'une sorose et le nombre de grains par sorose ainsi qu'entre la longueur d'une sorose et le nombre de grains par sorose.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les deux variétés étudiées ici, Kanva-2 et MIHP, diffèrent peu sur le plan de la fructification et donnent des fruits mûrs entre 22 et 23 jours après la pollinisation. On n'observe aucune pollinisation chez les soroses non pollinisées obtenues par parthénogenèse, ce qui confirme les résultats antérieurs (Das et Krishnaswami, 1965). Les fruits se forment dans les sacs pollinisés entre le 4^e et le 16^e jour chez MIHP et entre le 4^e et le 20^e jour chez Kanva-2 (Tableau I). Aucune formation de fruit n'apparaît dans les sacs pollinisés après le 16^e jour chez MIHP et après le 20^e jour chez Kanva-2, ce qui indique une perte de réceptivité des stigmates. Cependant, chez ces deux variétés, les traitements soumis à pollinisation ouverte donne un pourcentage de pollinisation supérieur à celui obtenu chez les croisements contrôlés. Ceci pourrait être dû à la variation de maturité des fleurons à l'intérieur d'une inflorescence et à une manifestation asynchrone de la réceptivité. Kumar et coll. (1992) ont observé que la pollinisation répétée améliore la production de grains chez le mûrier. Des résultats similaires ont été obtenus par Visser et Verhaegh (1980), Visser et Marcucci (1983) et Devries et Dubois (1983) respectivement chez le pommier, le poirier et le rosier. On observe une corrélation positive entre le poids d'une sorose et le nombre de grains par sorose (Tableau II), ce qui corrobore les résultats de Dandin et coll. (1987). Ces observations montrent donc clairement que la réceptivité des stigmates chez le mûrier reste élevée entre le 8^e et le 12^e jour après l'initiation des fleurs et que la pollinisation simple permet d'obtenir une production appréciable de grains bien que la pollinisation multiple soit une condition préalable, comme cela a été observé précédemment (Kumar et coll., 1992).

L'indice de pollinisation tend à être faible en début et en fin de pollinisation et est élevé pendant les périodes intermédiaires, entre 6 et 14 jours, ce qui indique que les stigmates sont plus réceptifs pendant cette période (Fig. 1). Les données révèlent en outre que la réceptivité des stigmates présente une différence variétale et qu'elle est plus élevée chez MIHP que chez Kanva-2.

Les résultats décrits ici pourraient avoir une importance capitale dans les programmes de conservation des banques génétiques, en particulier dans le cas du maintien de certains types rares ou de certaines lignées exotiques lorsque le manque de grains de pollen constitue un facteur limitatif à leur conservation ou à leur utilisation dans les programmes de croisement.

IN VITRO POLLEN GERMINATION IN *MORUS INDICA* L.

S. MONDAL, K.N. BHATTACHARYA & S. MANDAL

Department of Botany, Visva-Bharati, Santiniketan - 731 235, West Bengal, India.

*The present investigation reveals the effect of some chemicals like sucrose, boric acid, magnesium sulphate, calcium nitrate and potassium nitrate on in vitro pollen germination in **Morus indica** L. The maximum germination of pollen (90%) along with 350 µm tube development was found in 2% sucrose solution supplemented with 300 ppm of boric acid. Among the salts, magnesium sulphate showed the most effective results, i.e., 75% germination and 280 µm tube development. Distilled water also showed 30% germination along with 140 µm tube length.*

Keywords: Pollen germination, sucrose, boric acid, salts, *Morus indica*.

INTRODUCTION

Being the carrier of male genetic material of flowering plants, pollen grains play a vital role in breeding programmes. Good fruit set and high crop yield generally depend on viable pollen grains. So the pollen fertility and viability have a paramount importance in plant breeding. The objective of the present investigation is to find out the effect of sucrose, boric acid and salts of magnesium, calcium and potassium on *in vitro* pollen germination of *Morus indica* L., a plant belonging to the family Moraceae. The plant is economically important, having some medicinal properties.

MATERIALS AND METHODS

Flowers of *Morus indica* were collected and transferred to polythene bags. Pollen grains of immediately burst anthers were preferred. The grains were then sown on grooved slides containing solutions of sucrose, boric acid and salts of magnesium, calcium and potassium at various concentrations separately or in combinations. Slides were then kept in Petri dishes lined with a moist filter paper and examined under the microscope at different time intervals to record the germination percentage as well as pollen tube length.

RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that distilled water showed 30% germination along with 140 µm tube development. Two % sucrose solution showed 80% germination and 294 µm tube development (Table I). Thirty-five % germination along with 140 µm tube development was observed in 300 ppm of boric acid (Table II). But the addition of boric acid to the sucrose solution resulted in an increase in pollen germination as well as tube length. The optimum result was obtained in 2% sucrose solution supplemented with 300 ppm of boric acid, showing 90% germination and 350 µm tube development (Table III). In the case of salts, the effects of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ and KNO_3 were not so well marked, but MgSO_4 showed good response with maximum 75% germination along with 280 µm tube development in 100 ppm of MgSO_4 solution (Table IV).

Externally supplied sucrose maintains osmotic pressure and acts as a substrate for pollen metabolism (Johri and Vasil, 1961; Shivanna and Johri, 1985). The role of boron has been confirmed

Table I. Effect of sucrose on pollen germination of *Morus indica*.**Tableau I. Effet du saccharose sur la germination du pollen chez *Morus indica*.**

Concentration (%)	After 1 hr / Après 1 h		After 2 hr / Après 2 h		After 3 hr / Après 3 h	
	Germination (%)	Tube length (µm)	Germination (%)	Tube length (µm)	Germination (%)	Tube length (µm)
	Germination (%)	Longueur du tube (µm)	Germination (%)	Longueur du tube (µm)	Germination (%)	Longueur du tube (µm)
DW	20	98	25	125	30	140
0.5	40	150	45	180	45	185
1	60	195	62	200	65	210
2	75	215	80	245	80	294
3	50	195	55	210	55	250
5	35	115	40	125	40	125
8	20	92	22	105	25	125
10	15	80	15	84	15	98

DW: Distilled water / Eau distillée.

Table II. Effect of boric acid on pollen germination of *Morus indica*.**Tableau II. Effet de l'acide borique sur la germination du pollen chez *Morus indica*.**

Concentration (ppm)	After 1 hr / Après 1 h		After 2 hr / Après 2 h		After 3 hr / Après 3 h	
	Germination (%)	Tube length (µm)	Germination (%)	Tube length (µm)	Germination (%)	Tube length (µm)
	Germination (%)	Longueur du tube (µm)	Germination (%)	Longueur du tube (µm)	Germination (%)	Longueur du tube (µm)
100	3	70	5	80	10	84
200	25	110	30	125	35	140
500	15	60	15	65	17	70

Table III. Effect of boric acid and sucrose on pollen germination of *Morus indica*.Tableau III. Effet de l'acide borique et du saccharose sur la germination du pollen chez *Morus indica*.

Concentration (ppm + %)	After 1 hr / Après 1 h		After 2 hr / Après 2 h		After 3 hr / Après 3 h	
	Germination (%)	Tube length (μ m)	Germination (%)	Tube length (μ m)	Germination (%)	Tube length (μ m)
	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)
100 + 2	75	280	85	294	85	308
300 + 2	85	285	85	315	90	350
500 + 2	70	155	72	140	72	210

Table IV. Effect of salts on pollen germination of *Morus indica*.Tableau IV. Effet des sels sur la germination du pollen chez *Morus indica*.

Concentration (ppm)	After 1 hr / Après 1 h		After 2 hr / Après 2 h		After 3 hr / Après 3 h	
	Germination (%)	Tube length (μ m)	Germination (%)	Tube length (μ m)	Germination (%)	Tube length (μ m)
	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)	Germination (%)	Longueur du tube (μ m)
MgSO₄						
50	40	120	42	150	42	175
100	70	200	75	245	75	280
300	55	180	58	220	58	250
500	20	95	22	130	25	165
Ca(NO₃)₂						
50	10	100	12	130	15	150
100	20	110	25	170	28	190
300	17	95	18	150	18	180
500	8	85	10	115	10	135
KNO₃						
50	12	60	13	70	17	80
100	20	110	22	130	25	150
300	22	125	24	140	30	165
500	16	105	18	145	18	158

in germinating pollen and growing pollen tubes in vascular plants (Lewis, 1980; Sidhu and Malik, 1986). Boron is directly involved in pectin synthesis and enhances the tube growth rate (Stanley and Loewus, 1964; Sidhu and Malik, 1986). However, boron has an ability to make a complex with sugar and this sugar-borate complex is known to be capable of better translocation than non-borate, non-ionised sugar molecules (Vasil, 1964). The effect of either sugar or boric acid individually was not so well marked in this experiment, but the addition of both sucrose and boric acid yielded a high percentage of germination and tube development (Table III). According to Scott (1960), boron could exert a protective effect in preventing excessive polymerisation of sugar at sites of sugar metabolism. Moore and Jung (1974) pointed out that NO_3^- and Mg^{++} enhanced growth at low concentrations in the case of *in vitro* pollen germination of sugarcane. Thus, the present findings corroborate the findings of Vasil (1964), Gupta *et al.* (1989), Pal *et al.* (1989), Mandal *et al.* (1982) and Mondal *et al.* (1993).

REFERENCES

- GUPTA S., BHATTACHARYA K.N., CHANDA S. (1989) *In vitro* pollen germination of *Solanum sisymbirifolium* Lamk. (Solanaceae). J. Palynol., 25, 65-72.
- JOHRI B.M., VASIL I.K. (1961) Physiology of pollen. Bot. Rev., 27(3), 318-381.
- LEWIS D. (1980) Boron lignification and the origin of vascular plants. A unified hypothesis. New Phytol., 84, 209-229.
- MANDAL S., BARUI N.C., GANGULY P.N. (1982) *In vitro* pollen germination in *Arachis hypogaea* L. Sci. and Cult., 48, 115-116.
- MONDAL S., BHATTACHARYA K.N., MANDAL S. (1993) *In vitro* pollen germination in *Peltophorum inerme* (Roxb.) Llanos. J. Mendel., 10(2-4), 153-154.
- MOORE P.N., JUNG W.L. (1974) Studies in sugarcane pollen. I. *In vitro* germination of pollen. Phytol. Rev. Int. Bot. Exp., 32 (2), 147-158.
- PAL J.K., DUTTA B.K., MANDAL S., BHATTACHARYA G.N. (1989) Studies on the *in vitro* pollen germination of *Cassia fistula* L. J. Mendel., 6(3-4), 311-315.
- SCOTT E.G. (1960) Effect of supra optimal boron level on respiration and carbohydrates metabolism of *Helianthus annuus*. Plant Physiol., 35, 653.
- SHIVANNA K.R., JOHRI B.M. (1985) The Angiosperm Pollen Structure and Function. Wiley Eastern Limited, New Delhi, pp. 1-374.
- SIDHU R.J.K., MALIK C.P. (1986) Metabolic role of boron in germinating pollen and growing pollen tubes. In Biotechnology and Ecology of Pollen. Ed. by Mulcahy *et al.*, Springer Verlag, pp. 73-378.
- STANLEY R.G., LOEWUS F.A. (1964) Boron and myo-inositol in pollen pectin biosynthesis. In Pollen Physiology and Fertilization. Ed. by H.F. Linskens, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, pp. 128-139.
- VASIL I.K. (1964) Effect of boron on pollen germination and pollen tube growth. In Pollen Physiology and Fertilization. Ed. by H.F. Linskens, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, pp. 107-119.

GERMINATION *IN VITRO* DU POLLEN CHEZ *MORUS INDICA* L.

S. MONDAL, K.N. BHATTACHARYA & S. MANDAL

Department of Botany, Visva-Bharati, Santiniketan - 731 235, West Bengal, Inde.

Cette étude met en évidence l'effet de certaines substances chimiques comme le saccharose, l'acide borique, le sulfate de magnésium, le nitrate de calcium et le nitrate de potassium sur la germination in vitro du pollen chez Morus indica L. Le saccharose à 2 % enrichi avec 300 ppm d'acide borique donne la germination maximale du pollen (90 %) et un tube pollinique d'une longueur de 350 µm. Parmi les différents sels, le sulfate de magnésium donne les résultats les plus efficaces avec 75 % de germination et un tube pollinique de 280 µm. L'eau distillée donne une germination de 30 % et un tube pollinique d'une longueur de 140 µm.

INTRODUCTION

Les grains de pollen étant porteurs du matériel génétique mâle des plantes à fleurs, ils jouent un rôle vital dans les programmes de sélection. La qualité de la fructification et le rendement de la récolte dépendent de la viabilité des grains de pollen. La fertilité et la viabilité du pollen ont donc une importance capitale dans la sélection des végétaux. L'objet de cette étude est de déterminer l'effet du saccharose, de l'acide borique et des sels de magnésium, de calcium et de potassium sur la germination *in vitro* du pollen chez *Morus indica* L., plante appartenant à la famille des moracées. Cette plante a un intérêt économique en raison de ses propriétés médicinales.

MATERIELS ET METHODES

Des fleurs de *Morus indica* ont été prélevées et transférées dans des sacs en polyéthylène. On a choisi des grains de pollens issus d'anthères venant de s'ouvrir. Les grains ont ensuite été semés sur des lames cannelées contenant, individuellement ou en combinaison, des solutions de saccharose, d'acide borique et de sels de magnésium, de calcium et de potassium à différentes concentrations. Les lames ont ensuite été conservées dans des boîtes de Pétri tapissées avec un papier filtre humide et examinées au microscope à différents moments afin de relever le pourcentage de germination ainsi que la longueur du tube pollinique.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'eau distillée donne une germination de 30 % et un tube pollinique d'une longueur de 140 µm. La solution de saccharose à 2 % donne une germination de 80 % et un tube pollinique de 294 µm (Tableau I). On observe une germination de 35 % et un tube pollinique de 140 µm pour l'acide borique à 300 ppm (Tableau II). Cependant, l'addition d'acide borique à la solution de saccharose entraîne une augmentation de la germination et de la longueur du tube pollinique. La solution de saccharose à 2 % enrichie avec 300 ppm d'acide borique donne le résultat optimal avec une germination de 90 % et un tube pollinique de 350 µm (Tableau III). Pour ce qui concerne les sels, les effets du $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et du KNO_3 ne sont pas aussi marqués ; toutefois, le MgSO_4 donne une bonne réponse avec une germination maximale de 75 % et une longueur de tube de 280 µm pour la solution à 100 ppm (Tableau IV).

Le saccharose administré par voie externe maintient une pression osmotique et sert de substrat pour le métabolisme du pollen (Johri et Vasil, 1961 ; Shivanna et Johri, 1985). Le rôle du bore dans

la germination du pollen et la croissance des tubes polliniques a été confirmé chez les plantes vasculaires (Lewis, 1980 ; Sidhu et Malik, 1986). Le bore est directement impliqué dans la synthèse de pectine et il accélère la vitesse de croissance du tube pollinique (Stanley et Loewus, 1964 ; Sidhu et Malik, 1986). Cependant, le bore est capable de former un complexe avec le sucre ; on sait que ce complexe sucre-bore permet une meilleure translocation que les molécules de sucres non boratées et non ionisées (Vasil, 1964). L'effet soit du sucre, soit de l'acide borique individuellement n'est pas très marqué dans cette expérience mais l'addition de saccharose et d'acide borique donne un pourcentage de germination et une longueur de tube pollinique élevés (Tableau III). D'après Scott (1960), il se peut que le bore exerce un effet protecteur en empêchant la polymérisation excessive du sucre dans les sites de métabolisme du sucre. Moore et Jung (1974) ont observé que le NO_3^- et le Mg^{++} à faible concentration accélèrent la croissance pour ce qui concerne la germination *in vitro* du pollen chez la canne à sucre. Les résultats présentés ici corroborent donc les observations de Vasil (1964), Gupta et coll. (1989), Pal et coll. (1989), Mandal et coll. (1982) et Mondal et coll. (1993).

**XANTHOCHELUS FAUNUS (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE), A NEW RECORD OF INSECT
DAMAGING *TERMINALIA ARJUNA* BEDD. AND *TERMINALIA
TOMENTOSA* W. & A.**

P.K. MISHRA & J. JAYASWAL*

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

Keywords: New weevil pest, Arjun, Asan, tropical tasar.

Tasar culture is an age-old occupation of aborigines of Central India starting from the Western Ghats of the Vindhya Hills region touching the fringes of West Bengal and Uttar Pradesh. *Terminalia arjuna* Bedd. (Arjun) and *Terminalia tomentosa* W. & A. (Asan) are the two primary food plants of the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury. During the surveys on the insect pest complex of *T. arjuna* and *T. tomentosa* at the Central Tasar Research and Training Institute, Field Laboratory (Nagri, Ranchi, Bihar), *Xanthochelus faunus* Oliever (Coleoptera: Curculionidae) was recorded to be a serious pest of Arjun and Asan, responsible for 10 to 15% foliage loss.

The adult beetles were found feeding on leaves, leaving only the median vein and side veins. On sever attack of the pest, the apical shoots and buds were also damaged. The beetles usually appeared during June soon after premonsoonic showers and were present on the Arjun and Asan plants till late October. The peak period of their presence was recorded from July to the middle of September with an average population of 150 to 180 beetles per bush. Its preadult stages were found in the soil feeding on secondary and tertiary roots of the food plants of the tasar silkworm and were even responsible for wilting.

X. faunus Oliever, synonym *X. superciliosus* Gyllenhal, is a stout grey long-snouted weevil, measuring 8 to 8½ cm in length and 5 to 6 cm in breadth. It has earlier been recorded to be available in Southern Asia in the Commonwealth (Browne, 1968). This weevil is also present throughout the tasar belt in India. It has previously reported to be a serious pest of *Ziziphus mauritiana* (Lefroy, 1909; Wadhi and Batra, 1964).

This is the first report of *Xanthochelus faunus* Oliever as a pest of *T. arjuna* and *T. tomentosa*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Dr M.L. Thakur, Head, Division of Entomology, Forest Research Institute, Dehradun, for taxonomic identification of the pest.

REFERENCES

- BROWNE F.G. (1968) Pest and Diseases of Forest Plantation trees. Clarendon Press, Oxford, 1330 pp.
LEFROY H.M. (1909) Indian Insect Life, A Manual of the Insects of Plains. Thakur and Spink Co. Creed, London, 786 pp
WADHI S.R., BATRA H.N. (1964) Pest of tropical fruits. In Entomology in India (1938-1963). Silver Jubilee Issue of Indian J. Entomol., pp. 227-260.

* Present address: Regional Sericultural Research Station, 'Vinod Villa' West End Park, Hehal, Ranchi - 834 005, Bihar, India.

**RAPPORT SUR UN NOUVEL INSECTE NUISIBLE
POUR *TERMINALIA ARJUNA* BEDD. ET *TERMINALIA*
TOMENTOSA W. & A. : *XANTHOCHELUS FAUNUS*
(COLEOPTERA / CURCULIONIDAE)**

P.K. MISHRA & J. JAYASWAL*

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

La culture du tasar est une occupation séculaire des aborigènes d'Inde Centrale que l'on rencontre à partir des Ghats occidentaux, dans la région de Vindya Hills, jusqu'aux bords du Bengale occidental et de l'Uttar Pradesh. *Terminalia arjuna* Bedd. (Arjun) et *Terminalia tomentosa* W. & A. (Asan) sont les deux principales plantes nourricières du ver à soie tasar tropical, *Antheraea mylitta* Drury. Au cours d'études menées au Laboratoire d'essai du Central Tasar Research and Training Institute (Nagri, Ranchi, Bihar) sur les insectes nuisibles chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*, nous avons relevé que *Xanthochelus faunus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) est très nuisible pour les plantes d'Arjun et d'Asan, et provoque une perte de feuillage de l'ordre de 10 à 15 %.

Nous avons observé que les coléoptères adultes dévorent les feuilles, en laissant seulement la nervure principale et les nervures médianes. Les pousses apicales et les bourgeons sont aussi détruits à l'occasion d'attaques sévères. Les coléoptères apparaissent en général en juin peu après les averses précédant la mousson et sont présents sur les plants d'Arjun et d'Asan jusqu'à la fin octobre. Nous avons relevé que leur présence est maximum pendant la période allant de juillet jusqu'à la mi-septembre, avec une population moyenne de 150 à 180 coléoptères par buisson. Nous avons observé que des insectes au stade préadulte se trouvaient dans le sol, et se nourrissaient de racines secondaires et tertiaires, ce qui allait jusqu'à faire faner les plantes.

X. faunus Olivier, synonyme *X. superciliosus* Gyllenhal, est un gros charançon gris à tête longue, mesurant 8 à 8½ cm de longueur et 5 à 6 cm de large. On a précédemment enregistré sa présence en Asie du Sud dans le Commonwealth (Browne, 1968). Ce charançon est aussi présent d'un bout à l'autre de la ceinture du tasar en Inde. On a déjà observé qu'il est nuisible au *Ziziphus mauritiana* (Lefroy, 1909 ; Wadhi et Batra, 1964). Cette étude s'avère être la première sur les effets nuisibles de *Xanthochelus faunus* Olivier sur *T. arjuna* et *T. tomentosa*.

* Adresse actuelle : Regional Sericultural Research Station, "Vinod Villa" West End Park, Hehal, Ranchi - 834005, Bihar, Inde.

ESSENTIAL OIL OF *LITSEA SALICIFOLIA* ROXB. EX WALL. — A NEW REPORT FROM ASSAM, INDIA

S.N. CHOUDHURY¹*, M. CHOUDHURY², A.C. GHOSH¹ & P.A. LECLERCQ³*

1. Plant Sciences and Ecology Division, Regional Research Laboratory,
Jorhat - 785006, Assam, India.

2. Department of Chemistry, POWI, Jorhat - 785001, Assam, India.

3. Laboratory of Instrumental Analysis, Department of Chemical Engineering, Eindhoven
University of Technology, P.O. Box 513, 5600 MB Eindhoven, The Netherlands.

Litsea salicifolia Roxb. ex Wall. (Dighloti in Assamese) is a secondary food plant for the muga silkworm (*Antheraea assama* Ww.). Experiments conducted at the Regional Research Laboratory, Jorhat, Assam, India, indicated the presence of an essential oil in the leaves of this plant species, which has not been reported on previously. Hydrodistillation of the green leaves in a Clevenger type apparatus gave a clear and sweet-scented oil with 0.45% to 0.55% yield. The composition of this essential oil was investigated by GC and GC/MS. Twenty-three constituents have been identified, accounting for 99.9% of the oil. The major constituent appeared to be benzyl benzoate (76.7%), which is responsible for the pleasant flavour of the oil. Predominant major constituents included tentatively identified 1-phenylethyl benzoate (8.6%), β -phellandrene (5.3%), 1,8-cineole (1.5%) and (E)- β -ocimene (1.4%).

Keywords: *Litsea salicifolia*, Lauraceae, muga food plant, essential oil composition, benzyl benzoate, 1-phenylethyl benzoate.

INTRODUCTION

During the course of a routine plant survey conducted by the Department of Plant Sciences and Ecology, Regional Research Laboratory, Jorhat, Assam, India, for screening new essential oil-bearing plants in Northeastern India, a plant was encountered which was identified as *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall., Lauraceae. It is a small tree, producing profuse leaves in full growing stage. The plant is well distributed in the Lakhimpur, Sibsagar, Jorhat, Darrang, Kamrup, Goalpara and Nowgong districts of Assam, the Garo, Khasi and Jaintia hills of Meghalaya, and a few places of Nagaland in Northeastern India. These plants grow up to an elevation of 2000 m above mean sea level (Kanjilal *et al.*, 1992; Anonymous, 1962).

L. salicifolia is one of the host plants of the muga silkworm (*Antheraea assama* Ww.) in addition to *Persea bombycina*, *Litsea monopetala* (hitherto mostly called *Machilus bombycina* and *Litsea polyantha*, respectively), and other plants (Anonymous, 1962; Bharali, 1971, 1982; Chaudhury, 1981). Muga food plants (Kanjilal *et al.*, 1992; Hooker, 1985) as well as silkworms (Allen, 1899; Chaudhury, 1981) are indigenous to this region, and muga culture has a very old tradition in this part of the country (Chaudhury, 1981). Muga larvae are reared on these host plants for extraction of golden yellow silk, called muga silk, which is very attractive and found nowhere else in the world (Chaudhury, 1981; Bharali, 1982).

* Addresses for correspondence.

A considerable amount of literature is available on different aspects of muga host plants (Bharali, 1967, 1968; Bharali *et al.*, 1972; Yadav and Goswami, 1992a, 1992b). However, no information has been reported on the chemical composition of *L. salicifolia* and its essential oil. Only one paper seems to have been published on the essential oils of *Persea bombycina* (Choudhury and Leclercq, 1995). Therefore, an attempt was made to extract the essential oil and to identify the constituents present in this oil. This paper is the first report on the chemical composition of the leaf oil of *L. salicifolia*.

MATERIALS AND METHODS

Plant material:

Fresh leaves were collected from well-grown trees in the Jorhat and Sibsagar districts of Assam. A voucher specimen was deposited in the herbarium of the Regional Research Laboratory, Jorhat, Assam, India.

Isolation of the essential oils:

Fresh leaves (300 g) were subjected to hydrodistillation in a Clevenger type apparatus for 6 h to yield a clear oil of 0.45% to 0.55%.

Qualitative and quantitative analysis:

The oil was investigated by capillary GC and GC/MS.

GC: A Perkin-Elmer 8500 gas chromatograph equipped with an FID detector and a HP-1 fused silica column (24 m × 0.32 mm, 0.17 µm film thickness) was used. The samples, dissolved in hexane, were injected in the split mode, using pressure-controlled helium as carrier gas at a linear velocity of 30 cm/s (at 60 °C). Injector and detector temperatures were maintained at 250 °C. The column oven temperature was programmed from 60 °C (after 2 min.) to 250 °C at 4°/min. The final temperature was held for 20 min. Peak areas and retention times were measured by electronic integration. The relative amounts of individual components were based on the peak areas obtained, without FID response factor correction. Temperature-programmed (linear) retention indices of the compounds were determined relative to n-alkanes.

GC/MS: Analyses were carried out with a Hewlett-Packard 5970A mass selective detector (MSD), directly coupled to a HP 5790A gas chromatograph. A 25 m × 0.20 mm fused silica HP-1 column, with a film thickness of 0.33 µm, was employed. The column oven temperature was programmed from 60 °C (after 3 min.) to 300 °C at 5°/min. The injector and GC/MS interface temperatures were maintained at 280 and 300 °C, respectively. Helium carrier gas was pressure-controlled to give a linear gas velocity of 44 cm/s (at 60 °C). Electron ionisation mass spectra were acquired over the mass range 10-400 Da at a rate of 2 spectra/s.

Component identification: The constituents of the oils were identified by matching their 70 eV mass spectra and linear temperature-programmed retention indices with reference libraries (Anonymous, 1986, 1994; Davis, 1990; Henneberg *et al.*, 1994; Libbey, 1991; Masada, 1967; McLafferty and Stauffer, 1993; Ramaswamy *et al.*, 1986; Sandra and Bicchì, 1987).

RESULTS AND DISCUSSION

Hydrodistillation of the green leaves produced a colourless, pleasantly smelling oil in yields ranging from 0.45% to 0.55%. Detailed GC and GC/MS analyses indicated that the oil was a complex mixture consisting of more than 23 compounds, accounting for 99.9%. The volatile compounds identified in the oil are listed in Table I. The leaf oil was found to be very rich in esters, constituted by two compounds, i.e., benzyl benzoate (76.7%) and tentatively identified 1-phenylethyl benzoate (8.6%). These esters constituted the bulk of the oil and were the cause of its pleasant smell. The remainder of the oil was represented by 12 monoterpene hydrocarbons (9.9%) and five sesquiterpene hydrocarbons (2.4%). Oxygenated monoterpenes (1.9%) and sesquiterpenes (0.4%) contributed to only 2.3% of the oil.

These results show for the first time that the leaf oil from *L. salicifolia* found naturally in Northeastern India is characterised by a high content of benzyl benzoate.

Table I. Composition of the natural essential oil from the leaves of *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall. (Lauraceae) from Assam, India.*Tableau I.* Composition de l'huile essentielle naturelle des feuilles de *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall. (Lauraceae) d'Assam, Inde.

Compound <i>Composé</i>	RI ^a <i>RI^a</i>	Percentage ^b <i>Pourcentage^b</i>
α -thujene / α -thuyène	921	tr
α -pinene / α -pinène	928	0.5
Sabinene / Sabinène	962	0.3
β -pinene / β -pinène	967	0.6
Myrcene / Myrcène	982	1.0
α -phellandrene / α -phellandrène	994	0.6
Δ^3 -carene / Δ^3 -carène	1003	tr
p-cymene / p-cymène	1010	tr
1,8-cineole / 1,8-cinéol	1016	1.5
β -phellandrene / β -phellandrène	1018	5.3
(Z)- β -ocimene / (Z)- β -ocimène	1027	tr
(E)- β -ocimene / (E)- β -ocimène	1038	1.4
γ -terpinene / γ -terpinène	1047	0.2
Terpinen-4-ol / Terpinène-4-ol	1158	0.4
β -elemene / β -élémente	1385	tr
β -caryophyllene / β -caryophyllène	1411	1.2
α -humulene / α -humulène	1444	0.9
(E,E)- α -farnesene / (E,E)- α -farnesène	1497	0.2
δ -cadinene / δ -cadidène	1510	0.1
(E)-nerolidol / (E)-nérolidol	1547	0.3
α -cadinol	1632	0.1
Benzyl benzoate / Benzoate de benzyle	1721	76.7
1-phenylethyl benzoate* / Benzoate 1-phényléthyl*	1739	8.6

a. Measured linear retention indices on an HP-1 column, relative to n-alkanes.

a. Indices de rétention linéaire mesurées sur une colonne HP-1 par rapport aux n-alcane.

b. Area %; tr = trace (< 0.1%).

b. Pourcentage de surface; tr = trace (< 0,1 %).

* Tentative identification / Identification provisoire: MS, 70 eV, m/z (rel. int.): 226 [M⁺] (10), 211 (4), 208 (2), 121 (7), 105 (100), 104 (28), 77 (33), 51 (15).

REFERENCES

- ALLEN B.C. (1899) Monograph on the silk cloth of Assam.
 ANONYMOUS (1962) The Wealth of India; Raw Materials. CSIR, New Delhi, B.N. Sastri (ed.), 6, 152-156.
 ANONYMOUS (1986) The Sadtler standard gas chromatography retention index library. Sadtler Research Laboratories, Bio-Rad Laboratories, Philadelphia, PA, USA.

- ANONYMOUS (1994) PC version of the NIST/EPA/NIH mass spectral database, version 4.5. National Institute of Standards and Technology, US Department of Commerce, Gaithersburg, MD, USA.
- BHARALI N. (1967) Som: the muga food plant success in air layering. *Indian Silk*, 6(8), 5-7.
- BHARALI N. (1968) Fundamentals of raising muga food plant. *Indian Silk*, 7(8), 3-4.
- BHARALI N. (1971) Muga: an agro-biological industry. *Indian Silk*, 10(7), 5-10.
- BHARALI N. (1982) Muga industry in Assam: prospects and possibilities. *In Proc. Seminar on Sericulture and Handloom Industries in Assam. Evaluation and Monitoring Division Planning and Development, Assam, India*, pp. 31-33.
- BHARALI N., BORA P., NATH B.S. (1972) Effect of higher concentration of plant growth hormones on *Machilus bombycina* stem cuttings. *Indian J. Seric.*, 11(1), 6-10.
- CHAUDHURY S.N. (1981) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, Gauhati, Assam, India, pp. 1-31.
- CHOUDHURY S.N., LECLERCQ P.A. (1995) Essential oil of *Machilus bombycina* King from Northeastern India. *J. Essent. Oil Res.*, 7, 199-201.
- DAVIS N.W. (1990) Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr.*, 503, 1-24.
- HENNEBERG D., WEIMANN B., JOPPEK W. (1994) Mass spectrometry library search system MassLib, version 7.4 (for Ultrix). Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr, Germany: Using MassLib the following databases were searched:
 - a) McLAFFERTY F.W., STAUFFER D.B. (1988) The Wiley/NBS registry of mass spectral data. 4th ed., Wiley-Interscience, New York, NY, USA.
 - b) HENNEBERG D., WEIMANN B., JOPPEK W. (1994) MPI library of mass spectral data. Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr, Germany.
 - c) TEN NOEVER DE BRAUW M.C., BOUWMAN J., TAS A.C., LA VOS G.F. (1988) Compilation of mass spectra of volatile compounds in food. TNO-HVV-CSIA, Zeist, The Netherlands.
 - d) LECLERCQ P.A., SNIJDERS H.M. (1996) EUT library of EI mass spectra. Eindhoven University of Technology, Eindhoven, The Netherlands.
- HOOKE J.D. (1885) The Flora of British India. William Clowes and Sons Ltd., London, England, 5, 155-180.
- KANJILAL U.N., KANJILAL P.C., DE R.N., DAS A. (1992) Flora of Assam. Periodical Expert Book Agency, Vivek Vihar, Delhi, India, 2nd Reprint, 4, 46-101.
- LIBBEY L.M. (1991) A paradox database for GC/MS data on components of essential oils and other volatiles. *J. Essent. Oil Res.*, 3, 193-194.
- MASADA Y. (1967) Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Wiley and Sons, New York, NY, USA.
- McLAFFERTY F.W., STAUFFER D.B. (1993) Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.0. Palisade Co., Newfield, NY, USA. Using BenchTop/PBM the following database was searched:
 - McLAFFERTY F.W., STAUFFER D.B. (1991) The Wiley/NBS registry of mass spectral data. 5th ed., Wiley and Sons, New York, NY, USA.
- RAMASWAMY S.K., BRISCESI P., GARGIULLO R.J., VON GELDERN T. (1986) Sesquiterpene hydrocarbons: from mass confusion to orderly line-up. *In Flavors and Fragrances: A World Perspective (Proc. 10th Internat. Congress of Essential Oils, Fragrances and Flavors, Washington, DC, USA)*. B.M. Lawrence, B.D. Mookherjee, B.J. Willis (eds.), Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, The Netherlands (1988), pp. 951-980.
- SANDRA P., BICCHI C. (1987) Capillary gas chromatography in essential oil analysis. Hüthig, Heidelberg, Germany.
- YADAV G.C., GOSWAMI B.C. (1992a) Correlation and regression studies between leaf length and leaf length-breadth ratio of different morphotypes of som (*Machilus bombycina* King). *Sericologia*, 32(2), 287-291.
- YADAV G.C., GOSWAMI B.C. (1992b) Studies on the foliar constituents of som (*Machilus bombycina* King) and soalu (*Litsaea polyantha* Juss.). *Sericologia*, 32(3), 447-451.

UNE NOUVELLE HUILE ESSENTIELLE DE *LITSEA SALICIFOLIA* ROXB. EX WALL PROVENANT DE L'ASSAM (INDE)

S.N. CHOUDHURY^{1*}, M. CHOUDHURY², A.C. GHOSH¹ & P.A. LECLERCQ^{3*}

1. Plant Sciences and Ecology Division, Regional Research Laboratory, Jorhat - 785006, Assam, Inde.

2. Department of Chemistry, POWI, Jorhat - 785001, Assam, Inde.

3. Laboratory of Instrumental Analysis, Department of Chemical Engineering, Eindhoven University of Technology, P.O. Box 513, 5600 MB Eindhoven, Pays-Bas.

Litsea salicifolia Roxb. ex Wall (« Dighloti » en assamais) est une plante hôte secondaire du ver à soie muga (*Antheraea assama* Ww.). Des expériences réalisées au Regional Research Laboratory de Jorhat (Assam, Inde) ont permis de mettre en évidence, pour la première fois, la présence d'une huile essentielle dans les feuilles de cette espèce végétale. L'hydrodistillation des feuilles fraîches dans un appareil de type Clevenger donne une huile limpide, à l'odeur agréable, pour un rendement de 0,45 % à 0,55 %. La composition de cette huile essentielle a été étudiée par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse/spectrographie de masse. On a identifié vingt-trois composants, représentant 99,9 % de l'huile. Il semble que le constituant principal soit le benzoate de benzyle (76,7 %) qui est responsable de l'odeur agréable de cette huile. Les principaux constituants prédominants comprennent le benzoate de phényléthyl (8,6 %), qui est une substance identifiée provisoirement, le β -phellandrène (5,3 %), le 1,8-cinéole (1,5 %) et le (E)- β -ocimène (1,4 %).

INTRODUCTION

Au cours d'une étude de routine sur la flore du nord-est de l'Inde effectuée par le *Department of Plant Sciences and Ecology, Regional Research Laboratory* de Jorhat (Assam, Inde) visant à isoler de nouvelles plantes porteuses d'huiles essentielles, on a isolé une plante dénommée *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall., Lauraceae. C'est un arbre de petite taille, donnant une quantité abondante de feuilles en période de pleine croissance. Cette plante est répandue dans les districts de Lakhimpur, Sibsagar, Jorhat, Darrang, Kamrup, Goalpara et Nowgong de l'Assam, dans les monts Garo, Khasi et Jaintia du Meghalaya et dans certaines régions du Nagaland dans le nord-est de l'Inde. Ces plantes poussent jusqu'à 2 000 m d'altitude (Kanjilal et coll., 1992 ; Anonyme, 1962).

L. salicifolia est l'une des plantes hôtes du ver à soie muga (*Antheraea assama* Ww.) qui comprennent également *Persea bombycina*, *Litsea monopetala* (anciennement appelées *Machilus bombycina* et *Litsea polyantha* respectivement) ainsi que d'autres plantes (Anonyme, 1962 ; Bharali, 1971, 1982 ; Chaudhury, 1981). Les plantes nourricières muga (Kanjilal et coll., 1992 ; Hooker, 1985) et le ver à soie muga (Allen, 1899 ; Chaudhury, 1981) sont originaires de cette région et la culture muga est une tradition très ancienne de cette partie du pays (Chaudhury, 1981). Les larves muga sont élevées sur ces plantes hôtes pour leur soie jaune d'or, appelée soie muga, qui est très populaire et ne se trouve nulle part ailleurs dans le monde (Chaudhury, 1981 ; Bharali, 1982).

Il existe une documentation considérable sur les différents aspects des plantes hôtes muga (Bharali, 1967, 1968 ; Bharali et coll., 1972 ; Yadav et Goswami, 1992a, 1992b). Cependant, on ne

* Auteurs à contacter.

dispose d'aucune information sur la composition chimique de *L. salicifolia* et de son huile essentielle. Il semble qu'un seul article ait été publié sur les huiles essentielles de *Persea bombycina* (Choudhury et Leclercq, 1995). Une expérience a donc été réalisée afin d'extraire l'huile essentielle et d'identifier les constituants présents dans cette huile. Cet article constitue la première étude sur la composition chimique de l'huile foliaire de *L. salicifolia*.

MATERIELS ET METHODES

Matériel végétal :

Des feuilles fraîches ont été prélevées sur des arbres matures dans les districts de Jorhat et de Sibsagar (Assam). Un spécimen témoin a été déposé à l'herbier du *Regional Research Laboratory* de Jorhat (Assam, Inde).

Isolement des huiles essentielles :

Les feuilles fraîches (300 g) ont été soumises à hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 6 h afin d'obtenir une huile limpide de 0,45 % à 0,55 %.

Analyse qualitative et quantitative :

L'huile a été étudiée par chromatographie en phase gazeuse capillaire et par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse.

Chromatographie gazeuse : On a utilisé un chromatographe gazeux Perkin-Elmer 8500 équipé d'un détecteur FID et d'une colonne de silice HP-1 (24 m × 0,32 mm, épaisseur du film : 0,17 µm). Les échantillons, dissous dans l'hexane, ont été injectés en débit divisé en utilisant de l'hélium contrôlé par pression comme gaz porteur à une vitesse linéaire de 30 cm/s (à 60 °C). Les températures d'injection et de détection ont été maintenues à 250 °C. La température de la colonne a été programmée de 60 °C (après 2 mn) à 250 °C à raison de 4°/mn. La température finale a été maintenue pendant 20 mn. Les pics et les temps de rétention ont été mesurés par intégration électronique. Les quantités relatives de composants individuels sont basées sur les surfaces des pics obtenues sans correction du facteur de réponse FID. Les indices de rétention (linéaires) thermo-programmés des composés ont été déterminés en fonction des n-alcane.

Chromatographie gazeuse/spectre de masse : Les analyses ont été réalisées sur un détecteur sélectif de masse Hewlett-Packard 5970 A (MSD) directement couplé à un chromatographe gazeux HP 5790 A. On a utilisé une colonne HP-1 de silice de 25 m × 0,20 mm, d'une épaisseur de film de 0,33 µm. La température d'étuve de la colonne a été programmée de 60 °C (après 3 mn) à 300 °C à raison de 5°/mn. Les températures d'injection et d'interface chromatographie gazeuse/spectre de masse ont été maintenues respectivement à 280 et 300 °C. L'hélium porteur a été régulé par pression afin de produire une vitesse gazeuse linéaire de 44 cm/s (à 60 °C). Les spectres de masse par ionisation des électrons ont été obtenus sur les masses de 10 à 400 Da à raison de 2 spectres/s.

Identification des composants : Les composants des huiles ont été identifiés en comparant leur spectre de masse 70 eV et leurs indices de rétention thermorégulés linéaires avec ceux des ouvrages de référence (Anonyme, 1986, 1994 ; Davis, 1990 ; Henneberg et coll., 1994 ; Libbey, 1991 ; Masada, 1967 ; McLafferty et Stauffer, 1993 ; Ramaswamy et coll., 1986 ; Sandra et Bicchi, 1987).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'hydrodistillation des feuilles fraîches donne une huile incolore, à l'odeur agréable dont les rendements varient de 0,45 % à 0,55 %. Les analyses détaillées sur chromatographie gazeuse et sur chromatographie gazeuse/spectre de masse indiquent que cette huile est un mélange complexe comprenant plus de 23 composés représentant 99,9 % du total. Les composés volatiles identifiés dans cette huile sont présentés dans le tableau I. L'huile des feuilles est très riche en esters comprenant deux composés : le benzoate de benzyle (76,7 %) et une substance identifiée provisoirement comme étant du benzoate 1-phényléthyl (8,6 %). Ces esters constituent la majeure partie de cette huile et sont la cause de son odeur agréable. Le reste de l'huile est composé de douze hydrocarbures monoterpènes

(9,9 %) et de cinq hydrocarbures sesquiterpènes (2,4 %). Les monoterpènes (1,9 %) et les sesquiterpènes (0,4 %) oxygénés constituent seulement 2,3 % de l'huile.

Ces résultats montrent pour la première fois que l'huile foliaire de *L. salicifolia* présente naturellement dans le nord-est de l'Inde se caractérise par une teneur élevée en benzoate de benzyle.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	369
General sericulture	
Mûrier	373
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	377
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	381
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	383
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	387
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : oeufs, embryologie	393
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	395
Silkworms: silk glands	
Soie	397
Silk	

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

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

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.
The corresponding small letters indicate the language of the abstract.

Sériciculture générale

General sericulture

Analisis tecnico financiero de una unidad productora de capullo de seda en Tepexi de Rodriguez, Puebla. / Technic financial analysis of a silkworm rearing in Tepexi de Rodriguez, Puebla State.

Analyse technico-financière d'un élevage de vers à soie à Tepexi de Rodriguez, Etat de Puebla.

AGUILAR MEDEL C.

Departamento de Economia agricola, Universidad Autonoma Chapingo, Chapingo, Mexico.

1996 Thesis, Ingeniero Agronomo Especialista en Economia agricola. 144 p. (S)

Japanese silk industry: a retrospection.

L'industrie japonaise de la soie : une rétrospective.

ANONYME (from ISA, Newsletter)

1997 Indian Silk, Vol. 36(6), 40-42. (E)

Pest and disease occurrence in mulberry and silkworm : a survey.

Occurrence de maladies et de parasites chez le mûrier et le ver à soie : une étude.

BENCHAMIN K.V., VENKATARAMANA P., THIMMA NAIK S., SANATH KUMAR Y.N.

Regional Sericultural Research Station, Kodathi, Bangalore, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(2), 27-32 (E)

Mulberry sericulture in Tripura.

Sériciculture mûrier au Tripura.

BORPUZARI P., SINGH R.N., MUKHERJEE P.K.

Regional Development Office, Central Silk Board, Guwahati, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(1), 33-35. (E)

Prospects of mulberry sericulture in north-eastern region.

Perspectives de la sériciculture mûrier dans la région du nord-est.

BORPUJARI P., SINGH R.N., MUKHERJEE P.K.

Regional Development Office, Central Silk Board, Guwahati, Assam, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(4), 31-33. (E)

Vermiculture : scope and potentiality in sericulture.

Vermiculture : possibilité et potentiel en sériciculture.

DAS P.K., BHOGESHA K., SUNDARESWARAN P., MADHAVA RAO Y.R., SHARMA D.D.
Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Roas, Srirampura,
Mysore 570 008, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(2), 23-26. (E)

Role of NGOs and INGOs in sericulture development in Nepal.

Rôle des ONG et des OING dans le développement de la sériciculture au Népal.

GADA N., THAPA R.B., KADARIYA R.P.

Institute of Agriculture and Animal Science, Rampur, Chitwan, Nepal.

1996 IAAS Research Reports (1994-1995), 89-100. (E)

Mulberry cultivation in China.

Moriculture en Chine.

GOVINDAIAH, SHARMA D.D., BAJPAI A.K., DATTA R.K.

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

1997 Indian Silk, Vol. 36(2), 37-39. (E)

Murshidabad : a model district for silk.

Murshidabad : un district modèle pour la soie.

GUPTA B.K., GUPTA Y.K.

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

1997 Indian Silk, Vol. 36(3), 33-35. (E)

The economic importance of insects.

L'importance économique des insectes.

HILL D.S.

Animal Resources Program, Faculty of Resource Science and Technology, Universiti Malaysia
Sarawak, Malaysia.

1997 Chapman and Hall Ltd, 395 p. (E)

Economics of sericulture: an update.

Economie de la sériciculture : une actualisation.

LAKSHMANAM R., JAYARAM R., GANAPATHY RAO R., MALLIKARJUNA B., GEETHA
DEVI R.G.

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

1997 Indian Silk, Vol. 36(1), 21-23. (E)

The modern silk road: the global raw-silk market, 1850-1930.

La route de la soie moderne : le marché mondial de la soie grège, 1850-1930.

MA D.

University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA.

*1996 55th Annual Meeting of the Economic History Association, 8-10 September 1995, Chicago,
Illinois, USA.*

Mulberry silkworm by-product processing.

Produits dérivés du ver à soie du mûrier.

NGUYEN H.T., KIM L.T.

1996 Hanoi, Nha Xuat Ban Nong Nghiep, 115 p. (Vi)

Determining DRIS norms for mulberry in Gilan province.

Détermination des normes DRIS pour le mûrier dans la province de Gilan.

POUR GHOLAMREZA H., MALAKOUTI M.J.

College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran Islamic Republic.

1997 Soil and Water Journal, Vol. 10(1), 2. (Fa,e)

Sericulture in Gulbarga: Problems and prospects.

Sériciculture au Gulbarga : problèmes et perspectives.

PRABHAKAR RAO A., RAGHURAMAN R., DANDIN S.B.

KSSEDI, Sub-station at Kadaganchi, Gulbarga, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(3), 19-22. (E)

Sericultural extension management in China.

Gestion de l'extension séricicole en Chine.

SATHYANARAYANA RAJU Ch., DATTA R.K.

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

1997 Indian Silk, Vol. 36(1), 36-38. (E)

Role of germplasm bank in sericulture.

Rôle de la banque de germoplasmes en sériciculture.

THANGAVELU K., MUKHERJEE P.

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Hosur, Tamil Nadu, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(3), 5-11. (E)

Perfecting the model of mulberry - silkworm - silk production in changing economic structure in Gia Lam District (Hanoi City).

Perfectionnement du modèle de production du mûrier, des vers à soie et de la soie par le changement de la structure économique dans le district de Gia Lam (Hanoi).

TU D.C., DUNG P.T.M.

1995 Nong Nghiep Cong Nghiep Thuc Pham (Viet Nam), Vol. 7, 252. (Vi,e)

Mûrier

Mulberry

Mulberry cultivation techniques under water stress condition.

Techniques de culture du mûrier en conditions de manque d'eau.

BENCHAMIN K.V., NIZAMUDDIN S., SABITHA M.G., GHOSH A.

Regional Sericultural Research Station, Kodathi, Bangalore, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(3), 12-18. (E)

Studies on the pathogenic fungi of mulberry branch broken disease.

Etudes sur les champignons pathogènes responsables de la maladie des branches de mûrier cassées.

CHAI X., ZHOU S., SHEN G., CHAI R., ZHOU J., ZHOU Q., CHEN F., SHEN Z.

Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China.

1997 Canye Kexue, Vol. 23(3), 131-134. (C,e)

Elimination of phytoplasma by stem culture from mulberry plants (*Morus alba*) with dwarf disease.

Elimination du phytoplasme par culture des tiges provenant de plants de mûriers (*Morus alba*) atteints de la maladie du nanisme.

DAI Q., HE F.T., LIU P.Y.

Department of Biology, Shandong University, Jinan 250100, China.

1997 Plant Pathology, Vol. 46(1), 56-61. (E)

Mulberry improvement programmes - An overview.

Programmes d'amélioration du mûrier : une vue d'ensemble.

DANDIN S.B.

Karnataka State Sericultural Research & Development Institute, Thalaghattapura, Karakapura Road, Bangalore 560062, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(1), 5-9. (E)

Quality characteristics of four mulberry (*Morus* sp) cultivars in the area of Chania, Greece.

Caractéristiques qualitatives de quatre cultivars de mûriers (*Morus* sp) de la région de La Canée, Grèce.

GERASOPOULOS D., STAVROULAKIS G.

Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Horticulture & Technology Department, Macedonia Road, PO Box 85, Chania 73100, Greece

1997 Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 73(2), 261-264. (E)

A preliminary report on the breeding of a triploid mulberry variety '9204'.

Un rapport préliminaire sur la sélection d'une variété de mûrier triploïde "9204".

GUO H. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 174-175. (C)

Studies on the factors influencing the mulberry productivity in fields.

Etudes des facteurs influençant la productivité des mûriers sur le terrain.

KAMIMURA C. *et al.*

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 176-191. (J,e)

Soil sampling - Why, how and where?

Echantillonnage de sol - Pourquoi, comment et où ?

KIRSUR M.V.

Central Silk Board, CSB Complex, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(1), 13-16. (E)

Seed fertility of triploid mulberry varieties.

Fertilité des graines des variétés triploïdes de mûrier.

KOYAMA A.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 200-206. (J,e)

Breeding of a new mulberry variety '8033'.

Sélection d'une nouvelle variété de mûrier "8033".

LIANG M. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 172-173. (C)

Mulberry - a Hobsons choice.

Mûrier - un choix d'Hobson.

MANE J., RAYER S.G., PATIL G.M., VAGE M.K.

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(4), 38,41. (E)

Bud and twig dieback of mulberry in Gilan.

Dépérissement des branches et des bourgeons de mûrier au Gilan.

MIR HOSSEINY MOGHADDAM S.A., IZADYAR M.

Agricultural Research Center of Guilan, Bandar Anzali, Iran Islamic Republic.

1994 *Iranian Journal of Plant Pathology*, Vol. 30(1-4), 5. (Fa,e)

Irrigation and summer management of mulberry garden.

Irrigation et gestion des mûraies pendant l'été.

MISHRA R.K., MADHAVA RAO Y.R., RAMAKA, DATTA R.K.

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

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(1), 10-12. (E)

Techniques to produce of potted mulberry sapling for planting by the tobacco transplanter and systems of planting.

Techniques de production de jeunes mûriers en pot pour la plantation par greffe de tabac et systèmes de plantation.

OHYAMA H., YONEDA M., Tabei T., IIDA Y., NAGASE N., TOMITA K.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 380-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 33-39. (J)

Sprouting of winter buds, growth of branches and yield of mulberry fields in 1996.

Débourrement des bourgeons d'hiver, croissance des branches et rendement des mûraies en 1996.

OHYAMA H., Tabei T., IIDA Y., NAGASE N.

Sericultural Research Institute Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 61-66. (J)

Studies on the sex pheromone components of mulberry looper (*Hemerophila atrilineata* Butler).

Etudes des composants de la phéromone sexuelle de l'arpenteuse du mûrier (*Hemerophila atrilineata* Butler).

PU G., DU H., MAO J.

College of Biotechnology, Suzhou University, Suzhou 215151, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 70-72. (C,e)

Mulberry plantation techniques.

Techniques de plantation des mûriers.

SATISH VERMA, MATHEW JOHN, AQUEEL S.A., DATTA R.K.

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

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(1), 17-20. (E)

Delicious delicacies from nutritious mulberry.

Délicieuses friandises issues du mûrier.

SRIVASTAVA S., KAPOOR R., SRIVASTAVA R.P.

G.B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantnagar, UP, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(1), 39-40. (E)

Mulberry diseases : prevention is better than control.

Les maladies du mûrier : mieux vaut prévenir que guérir.

TOMY PHILIP

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

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(2), 14-16. (E)

A study on physiological changes of detached mulberry leaves during storage.

Une étude sur les changements physiologiques des feuilles de mûrier au cours du stockage.

XU X., CHEN H., ZHAO Z.

Department of Sericulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 77-81. (C,e)

Effect of mulberry leaf components on conidial germination of mulberry anthracnose fungi, *Colletotrichum dematium*, and observation of early infection processes on the mulberry leaf.

Effet des composants des feuilles de mûrier sur la germination conidiale des champignons de l'anthracnose du mûrier *Colletotrichum dematium* et observation des processus d'infection précoce des feuilles de mûrier.

YOSHIDA S., SHIRATA A.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1997 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 18, 79-96. (J,e)

Investigation on sex ratio of mulberry races and cross breeds.

Investigation sur le sex ratio des races et des espèces hybrides de mûriers.

ZHU F. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 120-121. (C)

Studies on pathogenicity of *Paecilomyces farinosus* parasiting on mulberry whiteflies to silkworms.

Etudes sur la pathogénicité de *Paecilomyces farinosus* parasite des mouches blanches du mûrier vis à vis des vers à soie.

ZHU F., QIU Q., HE B., LEI F.

Guangxi Sericultural Research and Development Institute, Nanning 530007, China.

1997 Canye Kexue, Vol. 23(3), 137-141. (C,e)

Studies on the relation between the occurrence of mulberry white fly and meteorological factors.

Etudes sur la relation entre la présence de la mouche blanche et les facteurs météorologiques.

ZHU L. *et al.*

1997 Canye Kexue, Vol. 23(3), 190-191. (C)

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

Influence of mulberry varieties on quantitative traits of bivoltine breeds of *Bombyx mori* L.

Influence des variétés de mûrier sur les caractères quantitatifs des souches bivoltines de *Bombyx mori* L.

BHEEMANNA C., GOVINDAN R., NARAYANASWAMY T.K.

College of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Chintamani 563125, India.

1997 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 31(1), 81-86. (E)

Effect of antibiotics on growth and cocoon parameters of silkworm, *Bombyx mori* L.

Effet des antibiotiques sur la croissance et les paramètres des cocons du ver à soie *Bombyx mori* L.

DECHU P.S., GOVINDAN R., DEVAIAH M.C., NARAYANA SWAMY T.K.

College of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Chintamani 563125, India.

1997 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 31(1), 41-46. (E)

The breeding of a new midautumn silkworm variety Chuan 11.

Sélection d'une nouvelle variété de mi-automne de ver à soie Chuan 11.

HE Y., WU Y., TANG X.

Sericultural Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Nanchong 637000, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 82-86. (C,e)

Breeding of 'Hwangwonjam', a sex-limited cocoon color variety, for labor saving in egg production.

Sélection de "Hwangwonjam", une variété de cocon de couleur limitée au sexe, pour une économie de travail dans la production des oeufs.

HONG K.W. et al.

Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1997 *RDA Journal of Industrial Crop Science*, Vol. 39(1), 51-56. (Ko,e)

Effects of water content in the artificial diet on the susceptibility of polyphagous silkworm, *Bombyx mori*, to nuclear polyhedrosis virus.

Effet de la quantité d'eau dans l'aliment artificiel sur la sensibilité des vers à soie polyphages *Bombyx mori* au virus de la polyédrose nucléaire.

IKEGAMI T., NAKANISHI H.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 40-43. (J)

Establishment of efficient natural mounting techniques in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms. (3) Disinfection of mature larvae with the automatic flourdredger emplaced in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms.

Etablissement de techniques efficaces d'encabanage naturel sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés. (3) Désinfection des larves matures avec une saupoudreuse automatique installée sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés.

IKEGAMI T., KOBAYASHI N.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 15-23. (J)*

Establishment of efficient natural mounting techniques in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms. (4) Disinfection of the rotary cocooning frame with particulate formalin.

Etablissement de techniques efficaces d'encabanage naturel sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés. (4) Désinfection des encabanages rotatifs avec du formol particulaire.

IKEGAMI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 24-32. (J)*

Laborsaving disinfection of the cardboard cocooning frame with ethylene oxide gas.

La désinfection des encabanages en carton avec de l'oxyde d'éthylène gazeux économise du travail.

IKEGAMI T., FUSEGI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 57-60. (J)*

Effects of agricultural chemicals within Oxycarboxine or Propiconazole, Thiabendazole, Chloroneb, against growth of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets des produits chimiques agricoles contenant de l'Oxycarboxine ou Propiconazole, du Thiabendazole, du Chloroneb contre la croissance du ver à soie *Bombyx mori*.

KOBAYASHI N.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 50-54. (J)*

Effects of agricultural chemicals within Tebufenozide or Flufenoxuron against growth of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets contre la croissance du ver à soie *Bombyx mori* des produits chimiques agricoles contenant du Tebufenozide ou du Flufenoxuron.

KOBAYASHI N.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 55-56. (J)*

Preparation of monoclonal antibodies to infectious flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori*.

Préparation d'anticorps monoclonaux du virus infectieux de la flacherie du ver à soie *Bombyx mori*.

KOBAYASHI N., IKEGAMI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 5, 44-49. (J)*

Typical correlative analysis on the feed efficiency of silkworm *Bombyx mori* L.

Analyse correlative typique sur l'efficacité du nourrissage du ver à soie *Bombyx mori* L.

LI L. *et al.*

1997 *Canye Kexue, Vol. 23(2), 122-123. (C)*

The investigation and correlation analysis on cocoon shell production efficiency of silkworm varieties.

Investigation et analyse de corrélation sur l'efficacité de production de la coque soyeuse des variétés de ver à soie.

LIN C., WU D., YAO Q., WEI Z.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 92-96. (C,e)

Breeding of a basal variety '125' with high raw silk rate.

Sélection d'une variété basale "125" avec un taux élevé de soie grège.

LUO Y. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 176-177. (C)

Establishment of efficient natural mounting techniques in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms. (1) Technique that improved percentage of mounted silkworms of natural mounting.

Etablissement de techniques efficaces d'encabanage naturel sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés. (1) Technique améliorant le pourcentage de vers à soie montés naturellement.

NAKANISHI H., NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 4-9. (J)

Establishment of efficient natural mounting techniques in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms. (2) The development, improvment and systematization of natural mounting equipment.

Etablissement de techniques efficaces d'encabanage naturel sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés. (2) Le développement, l'amélioration et la systématisation de l'équipement d'encabanage naturel.

NAKANISHI H., TABEI T., TOMITA K., NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 10-14. (J)

Effect of rearing density on the growth and survival in the 5th instar larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, reared on low cost artificial diet.

Effet de la densité d'élevage sur la croissance et la survie au cinquième âge larvaire chez le ver à soie *Bombyx mori* élevé sur un aliment artificiel à bas prix.

NINAGI O., MIKUNI T., NAKAMURA K., MARUYAMA M.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(4), 290-293. (J)

Simulation on the temperature control for the silkworm rearing facility.

Simulation sur le contrôle de température pour l'élevage des vers à soie.

OHURA M., PENG Y.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 215-218. (J)

Low cost environator for chawki rearing.

Une enceinte à bas prix pour l'élevage des jeunes vers à soie.

PRASAD G.V., SURYANARAYANA N.

Technical Service Center, Rayachoti, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(4), 24-30. (E)

Research progress on reproductive cycle of *Nosema infesta* in *Bombyx mori* L.

Progrès dans la recherche sur le cycle de reproduction de *Nosema infesta* chez *Bombyx mori* L.

QIAN Y. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 114-119. (C)

Studies on the breeding materials resistant to silkworm denosonucleosis.

Etudes sur les lignées de vers à soie résistantes à la denosonucleose.

QIN J., ZHANG Z., CHEN T., YANG Z., XU H.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 97-99. (C,e)

Studies on isolation conditions of protoplasts from *Beauveria bassiana*, a pathogenic fungus to *Bombyx mori* L.

Etudes sur les conditions d'isolement des protoplastes provenant de *Beauveria bassiana*, un champignon pathogène de *Bombyx mori* L.

SHI L.

Department of Sericultural Science, Zhejiang Agriculture University, Hangzhou 310029, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 100-103. (C,e)

Establishment of efficient natural mounting techniques in the multi-stage circulating rearing machine for grown silkworms. Experiment plan and main results.

Etablissement de techniques efficaces d'encabanage naturel sur la machine d'élevage à convoyeurs multi-âges pour vers à soie âgés. Projet d'expérimentation et principaux résultats.

TABEI T., TOMITA K.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1997 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 5, 1-3. (J)

Silkworm breeding in India - An overview.

Sélection des vers à soie en Inde - Une vue d'ensemble.

THANGAVELU K.

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Hosur, Tamil Nadu, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(2), 5-13. (E)

Studies on the breeding materials resistant to silkworm denosonucleosis.

Etudes sur les lignées de vers à soie résistantes à la denosonucleose.

QIN J., ZHANG Z., CHEN T., YANG Z., XU H.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 97-99. (C,e)

A study on suitable additive quantity of iron to the artificial diet for the young larvae of silkworm, *Bombyx mori*.

Etude sur la quantité additionnelle de fer convenable pour l'aliment artificiel destiné aux jeunes larves du ver à soie *Bombyx mori*.

WEI Y. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 178-180. (C)

Characteristics of sucrose formation, and the influence of UV irradiation on the feeding by the silkworm, in leaves of the mulberry.

Caractéristiques de la formation du saccharose dans les feuilles de mûrier et l'influence de l'irradiation aux UV sur le nourrissage chez le ver à soie.

YAZAWA M.

National Inst. of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1997 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol.*, Vol. 18, 1-77. (J,e)

The effect of moisture regain treatment of half dried cocoon on the drying percentage of different body size of pupae.

Effet du traitement de réhydratation des cocons à demi séchés sur le pourcentage de séchage des chrysalides de différentes tailles.

ZOU F. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 185-186. (C)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Breeding of tussah variety 'Xuan Da 1' having both big pupa and rich silk.

Sélection de la variété de tussah "Xuan Da 1" ayant à la fois une grande chrysalide et richesse en soie.

DUAN Q. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 187-189 (C)

Some features of silk-producing moths (*Bombyx mori*, *Antheraea pernyi*, *Antheraea yamamai*, *Philosamia cynthia ricini*).

Quelques caractères des papillons producteurs de soie (*Bombyx mori*, *Antheraea pernyi*, *Antheraea yamamai*, *Philosamia cynthia ricini*).

GONGYIN Y., CUI H.

Zhejiang Agricultural University, Hangzhou, China.

1996 *Tropicultura (Belgium)*, Vol. 14(1), 30-33. (E,f)

Effect of tartaric acid on cooking of tasar silk cocoon (*Antheraea mylitta* D.).

Effet de l'acide tartarique sur la cuisson des cocons de soie tasar (*Antheraea mylitta* D.).

GULRAJANI M.L., SUBRATA D., CHATTOPADHYAY R., KUSHAL S.

Department of Textile Technology, Indian Institute of Technology, New Dehli, India.

1996 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 38(2), 138-143. (Ko,e)

Santhals: culturing tasar culture.

Les Santals : ils cultivent le tasar.

PATRO K.B.G., DASH S.

Department of Sericulture, Government of Orissa, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(4), 19-23. (E)

Induced mating in tasar moths.

Accouplement provoqué chez les papillons tasar.

RATH S.S.

University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore 560 065, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(2), 33-36. (E)

Muga: new oviposition device.

Muga : un nouveau dispositif de ponte.

SAHU A.K., DAS P.K.

Regional Muga Research Station, Boko 781 123, Kamrup, Assam, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(1), 31-32. (E)

Medicinal tasar flora of Bhandara.

La flore médicinale du tasar de Bhandara.

YADAV G.S., REDDY K.J., MURGOD S.B., ROY G.C., SINHA B.R.R.P.

Regional Tasar Research Station, Bhandara, India.

1997 Indian Silk, Vol. 36(4), 34-37. (E)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

Reassessment of mapping of the E homeotic gene complex of *Bombyx mori* by linkage analysis and in situ hybridization with an *Antennapedia* clone as a probe.

Réévaluation de la cartographie du complexe du gène homéotique E de *Bombyx mori* par analyse des liaisons et hybridation in situ avec un clone d'*Antennapedia* comme sonde.

BANNO Y., SAKAIDA K., NAKAMURA T., TSUCHIDA K., KAWAGUCHI Y., KOGA K., DOIRA H.

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-81, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(3), 151-155. (E)

Identification of *Bombyx (mori)* collagenous protein with multiple short domains of Gly-Xaa-Yaa repeats: cDNA characterization and regulation of expression.

Identification de la protéine de collagène de *Bombyx mori* à multiple régions courtes des répétitions Gly-Xaa-Yaa : caractérisation de l'ADNc et régulation de l'expression.

CHAREYRE P., BESSON M.T., FOURCHE J., BOSQUET G.

UMR CNRS 5534, CGMC, Université Claude Bernard Lyon I, 43 bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

1996 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 26(7), 677-685. (E)

Production of synthetic spider dragline silk protein in *Pichia pastoris*.

Production de la protéine synthétique de la soie de la toile d'araignée chez *Pichia pastoris*.

FAHNESTOCK S.R., BEDZYK L.A.

Central Science and Engineering Laboratory, E.I. DuPont de Nemours & Co., Experimental Station, Wilmington, DE 19880-0328, USA.

1997 *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 47, 33-39. (E)

Synthetic spider dragline silk proteins and their production in *Escherichia coli*.

Protéines synthétiques de la soie de la toile d'araignée et leur production chez *Escherichia coli*.

FAHNESTOCK S.R., IRWIN S.L.

Central Science and Engineering Laboratory, E.I. DuPont de Nemours & Co., Experimental Station, Wilmington, DE 19880-0328, USA.

1997 *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 47, 23-32. (E)

Organization and molecular characterization of genes in the polyhedrin region of the *Anagrapha falcifera* multinucleocapsid NPV.

Organisation et caractérisation moléculaire des gènes dans la région de la polyédrine du NPV multinucléocapside d'*Anagrapha falcifera*.

FEDERICI B.A., HICE R.H.

Department of Entomology and Interdepartmental Graduate Program in Genetics, University of California, Riverside, California, USA.

1997 *Arch. Virol.*, Vol. 142, 333-348. (E)

Expression of green fluorescent protein in *Bombyx mori* cells.

Expression de la protéine fluorescente verte dans les cellules de *Bombyx mori*.

FENG Z., ZHAO Y., HUANG R., QI G., LU C., CHEN X., HUANG J.

Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 135-136. (C,e)

Genetic analysis of larval and cocoon traits in Eri silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval by diallel cross.

Analyse génétique par croisement diallèle des caractères des cocons et des larves chez le ver à soie eri *Samia cynthia ricini* Boisduval.

GOVINDAN R., NAGARAJA M., NARAYANA T.K., DEVAIAH M.C.

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore 560 065, India.

1997 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 31(2), 180-184. (E)

Analyses and taxonomic inferences of small subunit ribosomal RNA sequences of five microsporidia pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*.

Analyses et inférences taxonomiques des séquences de petites sous unités d'ARN ribosomique de cinq microsporidies pathogènes du ver à soie *Bombyx mori*.

HATAKEYAMA Y., KAWAKAMI Y., IWANO H., INOUE T., ISHIHARA R.

Laboratory of Nucleic Acid Science, College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1886 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 242-252. (E,j)

Detection of replicative intermediate with closed terminus of *Bombyx* densovirus.

Détection de l'intermédiaire répliatif du virus de la densovirose de *Bombyx*.

HAYAKAWA T., ASANO S., SAHARA K., IIZUKA T., BANDO H.

Laboratory of Applied Molecular Entomology, Department of Applied Bioscience, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

1997 *Arch. Virol.*, Vol. 142, 393-399. (E)

A major non-LTR retrotransposon of *Bombyx mori*, L1Bm.

L1Bm, un rétrotransposon majeur non-LTR de *Bombyx mori*.

ICHIMURA S., MITA K., SUGAYA K.

Division of Biology and Oncology, National Institute of Radiological Sciences, Anagawa, Inage-ku, Chiba-shi 263, Japan.

1997 *J. Mol. Evol.*, Vol. 45, 253-264. (E)

Identification and mRNA developmental profiles of two ultra spiracle isoforms in the epidermis and wings of *Manduca sexta*.

Identification et profils au cours du développement de deux isoformes de l'ultra-spiracle dans l'épiderme et les ailes de *Manduca sexta*.

JINDRA M., HUANG J.Y., MALONE F., ASAHINA M., RIDDIFORD L.M.*

* Department of Zoology, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.

1997 *Insect Molecular Biology*, Vol. 6(1), 41-53. (E)

Sequencing of the putative DNA helicase-encoding gene of the *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus and fine-mapping of a region involved in host range expansion.

Séquençage du gène codant pour l'hélicase du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* et cartographie fine d'une région impliquée dans l'expansion du nombre d'hôtes.

KAMITA S.G., MAEDA S.

Department of Entomology, University of California, Davis, CA 95616, USA.

1997 *Gene*, Vol. 190, 173-179. (E)

Studies on the combining ability in silkworm *Bombyx mori* L.

Etude sur l'aptitude combinatoire chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

NANJUNDA SAWMY L.

Dept of Studies in Sericultural Science, Univ. of Mysore, Manasagangotri, Mysore 570 006, India.

1997 *Thesis of PhD, University of Mysore, India*. 134 p. (E)

Action of the attached chromosome fragment translocated on the W chromosome in the mottled strain screened from sex-limited pB silkworm, *Bombyx mori*.

Action du fragment de chromosome attaché transloqué sur le chromosome W dans la souche tachetée sélectionnée à partir du ver à soie *Bombyx mori* pB limité au sexe.

NINAGI O., NAGAYASU K.I., OZAKI M., TAJIMA Y., OSHIKI T.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 212-214. (J)

Construction, cloning and expression of synthetic genes encoding spider dragline silk.

Construction, clonage et expression de gènes synthétiques codant pour la soie de la toile d'araignée.

PRINCE J.T., MACGRATH J.T., DIGIROLAMO C.M., KAPLAN D.L.

US Army Natick Research Development and Engineering Center, Natick, MA, USA.

1995 *Biochemistry*, Vol. 34(34), 10879-10885. (E)

Effective length of starvation for acquiring fertile tetraploid males in the silkworm.

Durée efficace de jeûne pour l'obtention de mâles tétraploïdes fertiles chez le ver à soie.

SAHARA K. *et al.*

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, N9, W9, Kita-ku, Sapporo 060, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 207-211. (J,e)

Origin of the gene in the newly discovered large egg mutant of *Bombyx mori*.

Origine du gène chez le mutant à gros oeufs nouvellement découvert de *Bombyx mori*.

SAHARA K., KAWAMURA N., IIZUKA T., DOIRA H.

Laboratory of Applied Molecular Entomology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, N9, W9, Kita-ku, Sapporo 060, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(4), 261-265. (E,j)

Hatching ability of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) eggs micro-injected with different concentrations of DNA at selected embryonic stages.

Capacité d'éclosion des oeufs de *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) micro-injectés avec différentes concentrations d'ADN à des stades embryonnaires sélectionnés.

SHAMILA Y., MATHAVAN S.

Sericulture Research Unit, Dept of Genetics, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, India.

1997 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 94(4), 553-555. (E)

Heterologous promoter recognition leading to high-level expression of cloned foreign genes in *Bombyx mori* cell lines and larvae.

Reconnaissance des promoteurs hétérologues conduisant à l'expression très importante de gènes étrangers clonés dans les lignées cellulaires et les larves.

SRIRAM S., PALHAN V.B., GOPINATHAN K.P.

Microbiology and Cell Biology Department, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India.

1997 *Gene*, Vol. 190, 181-189. (E)

Methods for fluorescence in situ hybridization using oocyte and spermatocyte chromosomes of *Bombyx mori*.

Méthodes pour l'hybridation in situ fluorescente utilisant les chromosomes des ovocytes et des spermatoocytes de *Bombyx mori*.

TSUCHIDA K.Z., BANNO Y., HASHIDO K.

Nationale Institut of Infectious Diseases, Shinjuku, Tokyo 162, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 233-241. (J)

Genetic analysis on cocoon fluorescent colour in *Bombyx mori*.

Analyse génétique sur la couleur fluorescente du cocon chez *Bombyx mori*.

XIANG Z., HUANG X., XIA Q.

Key Laboratory of Agricultural Ministry, College of Sericulture & Silk, Southwest Agricultural University, Chongqing 630716, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 87-91. (C,e)

Expressing Marek's disease virus glycoprotein B gene in silkworm.

Expression du gène B de la glycoprotéine du virus de la maladie de Marek chez le ver à soie.

XIAO Q., JI P., HE J., CUI Z., QIN A., WU X.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Zhenjiang 212018, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 104-108. (C,e)

Studies on the induction of recessive lethal genes of embryonic period in Z chromosome and their sites in *Bombyx mori* L.

Etudes sur l'induction des gènes léthaux récessifs de la période embryonnaire dans le chromosome Z et leurs sites chez *Bombyx mori* L.

XU A. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 124-125. (C)

Characteristics of the larva of naked pupa (Nd) strain in the silkworm, *Bombyx mori*, as a host for the baculovirus expression vector system.

Caractéristiques de la larve de la souche à pupue nue (Nd) chez le ver à soie *Bombyx mori* utilisée comme hôte pour le système d'expression du baculovirus.

YAMAZAKI Y., OKAZAKI H., SUZUKI T., KANAYA T., OGAWA K., WATANABE H.

Research Institute for Biological Science, Katakura Industries Co. Ltd., Matsumoto, Nagano 390, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 277-281. (J,e)

Bombyxin F1 gene: structure and expression of a new bombyxin family gene that forms a pair with Bombyxin B10 gene.

Gène F1 de la bombyxine : structure et expression d'un gène d'une nouvelle famille de la bombyxine qui forme une paire avec le gène B10 de la bombyxine.

YOSHIDA I. *et al.*

Department of Biology, Faculty of Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-11, Japan.

1997 *Zoological Science*, Vol. 14, 615-622. (E)

Studies on the inheritance of fluorescent colour of cocoons in silkworm, *Bombyx mori*.

Etude sur l'hérédité de la couleur fluorescente des cocons chez le ver à soie *Bombyx mori*.

YU X., XIE L.

College of Biotechnology, Suzhou University, Suzhou 215151, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 147-151. (C,e)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Prothoracicotropic hormone-producing neurosecretory cells in the silkworm, *Bombyx mori*, express a muscarinic acetylcholine receptor.

Les cellules neurosécrétrices produisant l'hormone prothoracicotrope chez le ver à soie *Bombyx mori* expriment un récepteur d'acétylcholine muscarinique.

AIZONO Y., ENDO Y., SATTELLE D.B., SHIRAI Y.

Department of Biofunctional Chemistry, Faculty of Agriculture, Kobe University, Nada-ku, Hyogo 657, Japan.

1997 Brain Research, Vol. 763, 131-136. (E)

Expression and characterization of a lepidopteran general odorant binding protein.

Expression et caractérisation d'une protéine de lépidoptère fixant les odeurs.

FENG L., PRESTWICH G.D.

Department of Chemistry, University at Stony Brook, Stony Brook, New York, NY 11794-3400, USA.

1997 Insect Biochem. Molec. Biol., Vol. 27(5), 405-412. (E)

Developmental profiles of wing imaginal discs of flügellos (fl), a wingless mutant of the silkworm, *Bombyx mori*.

Disques alaires imaginaires au cours du développement chez flügellos (fl) un mutant sans aile du ver à soie *Bombyx mori*.

FUJIWARA H., HOJYO T.

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

1997 Dev. Genes Evol., Vol. 207, 12-18. (E)

Improved techniques for the rapid radioimmunoassay of ecdysteroids and other metabolites.

Techniques améliorées pour le RIA rapide des ecdystéroïdes et autres métabolites.

GELMAN D.B., KHALIDI A.A., LOEB M.J.

Insect Neurobiology and Hormone Laboratory, United States Department of Agriculture, ARS, PSI, Beltsville, MD 20708, USA.

1997 Invertebrate Reproduction and Development, Vol. 32(2), 127-129. (E)

Delayed appearance of sperm cells by treatment with juvenile hormone and ecdysteroid on recessive trimolter of *Bombyx mori*.

Apparition retardée des cellules du sperme par traitement à l'hormone juvénile et à l'ecdysétoïde sur le trimuant récessif de *Bombyx mori*.

HE L., NAKAGAKI M., KAJIURA Z., TAKEI R.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda 386, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 192-199. (J,e)

Antiviral substance from silkworm faeces: purification and its chemical characterization.

Substance antivirale provenant des fèces de ver à soie : purification et caractérisation chimique.

HIRAKI A., YAKAWA M., KIM J., UEDA S.

Institute of Molecular & Cellular Biology for Pharmaceutical Science, Kyoto Pharmaceutical University, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan.

1997 *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 20(5), 547-555. (E)

Action of different ecdysteroids on the regulation of mRNAs for the ecdysone receptor, MHR3, dopa decarboxylase, and a larval cuticle protein in the larval epidermis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Action de différents ecdystéroïdes sur la régulation des ARNm pour la dopa decarboxylase, le récepteur d'ecdysone MHR3 et une protéine cuticulaire larvaire dans l'épiderme larvaire du sphinx du tabac *Manduca sexta*.

HIRUMA K., BÖCKING D., LAFONT R., RIDDIFORD L.M.*

* Department of Zoology, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.

1997 *General and Comparative Endocrinology*, Vol. 107, 84-97. (E)

HPLC analysis of vitamin B6 derivatives in the silkworm, *Bombyx mori*.

Analyse HPLC des dérivés de la vitamine B6 chez le ver à soie *Bombyx mori*.

HUANG L., ZHANG J., HAYAKAWA T., TSUGE H.

United Graduate School of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-11, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 169-175. (J,e)

Developmental profiles and ecdysteroid regulation of the mRNAs for two ecdysone receptor isoforms in the epidermis and wings of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Profil au cours du développement et régulation par les ecdystéroïdes des ARNm pour deux isoformes du récepteur d'ecdysone dans l'épiderme et les ailes du sphinx du tabac *Manduca sexta*.

JINDRA M., MALONE F., HIRUMA K., RIDDIFORD L.M.*

* Department of Zoology, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.

1996 *Developmental Biology*, Vol. 180, 258-272. (E)

Regulation of the ecdysone receptor, USP, E75 and MHR3 mRNAs by 20-hydroxyecdysone in the GV1 cell line of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Régulation des ARNm des récepteurs d'ecdysone USP, E75 et MHR3 par la 20-hydroxyecdysone dans la lignée cellulaire GV1 du sphinx du tabac *Manduca sexta*.

LAN Q., WU Z., RIDDIFORD L.M.*

* Department of Zoology, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.

1997 *Insect Molecular Biology*, Vol. 6(1), 3-10. (E)

A preliminary study on the subculture of testicle cells of *Ailanthus* silkworm pupae and the infection by oak silkworm NPV pathogens.

Une étude préliminaire sur la sous-culture des cellules des testicules de chrysalides du ver à soie *Ailanthus* et l'infection par les NPV pathogènes du ver à soie du chêne.

LIU S. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 128-129. (C)

Development of a measurement system for data collection of the behavioral information of insects by means of image processor.

Développement d'un système de mesure pour la collecte des données sur les informations comportementales des insectes par imagerie informatique.

OHURA M., PENG Y.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 272-276. (J,e)

Laboratory screening of different *Bacillus thuringiensis* strains against certain lepidopteran pests and subsequent field evaluation on the pod boring pest complex of pigeonpea (*Cajanus cajan*).

Tests en laboratoire de différentes souches de *Bacillus thuringiensis* contre certains parasites des lépidoptères et évaluation ultérieure sur le terrain sur le complexe parasitaire perçant les cosses de *Cajanus cajan*.

PUTAMBEKAR U.S., MUKHERJEE S.N.*, RANJEKAR P.K.

* Entomology Group, National Chemical Laboratory, Pune 411 008, Maharashtra, India.

1997 *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 71, 313-323. (E)

Izozyme patterns of esterases in some races of *Bombyx mori* during ontogeny.

Diagramme des isozymes des estérases chez quelques races de *Bombyx mori* au cours de l'ontogénie.

RAJE URS S., KRISHNAMURTHY N.B., HEGDE S.N.

Central Silk Board, CSB Complex, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560068, India.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 109-113. (E)

Ontogenetic differentiation of alpha and beta esterases in univoltine, bivoltine and trimoulter races of silkworm.

Différenciation ontogénétique des estérases alpha et bêta chez les races monovoltines, bivoltines et trimultes de ver à soie.

RAJU P.J., KRISHNAMURTHY N.B.

Sub-station B.R. Hills, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, 571441 Karnataka, India.

1996 *Annals of Tropical Research (Philippines)*, Vol. 17(1-4), 45-53.

Smp-1, a novel membrane protein of olfactory neurons of the silk moth *Antheraea polyphemus* with homology to the CD36 family of membrane proteins.

Smp-1, une nouvelle protéine membranaire des neurones olfactifs du papillon à soie *Antheraea polyphemus* avec une homologie avec la famille CD36 des protéines membranaires.

ROGERS M.E., SUN M., LERNER M.R., VOGT R.G.*

* Department of Biological Sciences, University of South Carolina, Columbia, SC 29208, USA.

1997 *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 272(23), 147952-14799. (E)

Levels of biogenic amines in the brain during pupal and adult development of the silkworm, *Bombyx mori*.

Niveaux des amines biogènes dans le cerveau au cours du développement de l'adulte et de la chrysalide chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SHIMIZU T., TAKEDA N., YAGI S.

Laboratory of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1997 *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, Vol. 52(3-4), 279-282. (E)

Purification and characterization of a chymotrypsin inhibitor with an oligosaccharide chain from the hemolymph of *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation d'un inhibiteur de chymotrypsine avec une chaîne d'oligosaccharide provenant de l'hémolymphe de *Bombyx mori*.

SHIRAI K., FUJII H.*, DOIRA H.

Institute of Genetic Resources, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-81, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 253-260. (E,j)

Evaluation of polysaccharides as elicitor inducing antibacterial activity in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Evaluation des polysaccharides comme déclencheurs induisant l'activité antibactérienne chez les larves du ver à soie *Bombyx mori*.

SUGIMURA Y., UEHARA H., KOTANI E., FURUSAWA T.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Goshokaido-cho, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 285-287. (E)

Synthesis and biological activity of 3-deoxyecdysteroid analogues.

Synthèse et activité biologique des analogues du 3-desoxyecdystéroïde.

SUKSAMRARN A., CHAROENSUK S., YINGYONGNARONGKUL B.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok 10240, Thailand.

1997 *Tetrahedron*, Vol. 52(32), 10673-10684. (E)

Synthesis and moulting hormone activity of 3-epi-2-deoxy-20-hydroxyecdysone and analogues.

Synthèse et activité hormone de mue de la 3-epi-2-desoxy-20-hydroxyecdysone et analogues.

SUKSAMRARN A., YINGYONGNARONGKUL B.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok 10240, Thailand.

1997 *Tetrahedron*, Vol. 53(9), 3145-3154. (E)

Developmental changes in activity of leucyl-beta-naphthylamidase of Malpighian tubules in the silkworm, *Bombyx mori*.

Changements au cours du développement dans l'activité de la leucyl-beta-naphthylamidase des tubes de Malpighi chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SUMIDA M.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(4), 282-284. (E)

A study on Al₂O₃-chitosan as supports of immobilized enzyme.

Une étude sur le Al₂O₃-chitosan utilisé comme support d'enzyme immobilisée.

TAI N., ZHUANG D., JI X., YUAN Z.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 158-162. (C,e)

Separation of Bombyxin from a neuropeptide of *Bombyx mori* showing summer-morph-producing hormone (SMPH) activity in the Asian comma butterfly, *Polygonia c-aureum* L.

Séparation de la bombyxine d'un neuropeptide de *Bombyx mori* montrant une activité de l'hormone produisant le morphe d'été chez le papillon comma d'Asie *Polygonia c-aureum* L.

TANAKA D., SAKURAMA T., MITSUMASU K., YAMANAKA A., ENDO K.

Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University, Yamaguchi 753, Japan.

1997 *J. Insect Physiol.*, Vol. 43(2), 197-201. (E)

Structure and expression of bombyxin E1 gene: a novel family gene that encodes Bombyxin-IV, an insect insulin-related neurosecretory peptide.

Structure et expression du gène E1 de la bombyxine : un gène d'une nouvelle famille qui code pour la bombyxine-IV, un peptide neurosécréteur d'insecte apparenté à l'insuline.

TSUZUKI S., MASUTA T., FURUNO M., ZAKURAI S., IWAMI M.

Department of Biology, School of Science, Nagoya University, Nagoya 464-01, Japan.

1997 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 117B(3), 409-416. (E)

p260/270 expressed in embryonic abdominal leg cells of *Bombyx mori* can transfer palmitate to peptides.

p260/270 exprimé dans les cellules embryonnaires des pattes abdominales de *Bombyx mori* peut transférer le palmitate aux peptides.

UENO K., SUZUKI Y.

Department of Development Biology, National Institute of Basic Biology, Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1997 *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 272(21), 13519-13526. (E)

Effet of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the humoral immune response of *Galleria mellonella* larvae (Lepidoptera: Pyralidae).

Effet du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* sur la réponse immunitaire humorale des larves de *Galleria mellonella* (Lepidoptera : Pyralidae).

VILCINSKAS A., MATHA V.

Institute of Zoology, Free University of Berlin, Königin-Luise-Str. 1-3, 14195 Berlin, Germany.

1997 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 94(4), 461-472. (E)

Effect of silkworm hemolymph on the expression of *E. coli* beta-galactosidase in insect cell lines infected with recombinant baculoviruses.

Effet de l'hémolymph de ver à soie sur l'expression de la bêta-galactosidase d'*E. coli* chez des lignées de cellules d'insectes infestés par des baculovirus recombinants.

WOO S.D., KIM W.J., KIM H.S., CHOI J.Y., JIN B.R., KANG S.K.

Department of Agricultural Biology, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea.

1997 *Mol. Cells*, Vol. 7(4), 572-574. (E)

Juvenile hormone in insect reproduction - a paradox?

L'hormone juvénile dans la reproduction chez les insectes - un paradoxe ?

WYATT G.R.

Department of Biology, Queen's University, Kingston, Ontario K7L 3N6, Canada.

1997 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 94(3), 323-333. (E)

A study on the grouping and separation of amino acids from silkworm pupae.

Etude sur le groupement et la séparation des acides aminés provenant des chrysalides de ver à soie.

ZHU X. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 181-182. (C)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Why not loose silkworm eggs ?

Pourquoi ne pas détacher les oeufs de ver à soie ,

BIRAM SAHEB N.M., SAMSON M.V.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Kodathi Bangalore, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(4), 11-15. (E)

The prothoracicotropic hormone bombyxin has specific receptors on insect ovarian cells.

La bombyxine, hormone prothoracicotrope, a des récepteurs spécifiques sur les cellules ovariennes chez l'insecte.

FULLBRIGHT G., LACY E.R., BÜLLESBACH E.E.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical University of South Carolina, Charleston, USA.

1997 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 245, 774-780. (E)

Spatial and temporal expression pattern of POU-M1/SGF-3 in *Bombyx mori* embryogenesis.

Profil d'expression temporelle et spatiale de POU-M1/SGF-3 dans l'embryogenèse chez *Bombyx mori*.

KOKUBO H., XU P.X., XU X., MATSUNAMI K., SUZUKI Y.

National Institute for Basic Biology, Myodaiji-cho, Okazaki 444, Japan.

1997 *Dev. Genes Evol.*, Vol. 206, 494-502. (E)

Changes of quantity and form of calcium in the silkworm egg induced by artificial hatching treatment.

Variations de quantité et de forme du calcium dans les oeufs de ver à soie traités pour l'éclosion artificielle.

XIAN X., OZAKI M., KOBAYASHI M.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 66(3), 219-221. (J)

Studies on the physical injury and hatchability of silkworm eggs irradiated with N+ beams.

Etudes sur les lésions physiques et la capacité d'éclosion des oeufs de vers à soie irradiés avec des rayons N+.

ZHOU C. et al.

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(2), 126-127. (C)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Expression of ecdysteroid-regulated transcripts in the silk gland of the wax moth, *Galleria mellonella*.

Expression des transcrits régulés par un ecdystéroïde dans la glande séricigène de *Galleria mellonella*.
JINDRA M., RIDDIFORD L.M.*

* Department of Zoology, University of Washington, Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.
1996 *Dev. Genes Evol.*, Vol. 206, 305-314. (E)

Involvement of the *Bombyx* *Scr* gene in development of the embryonic silk gland.

Implication du gène *Scr* de *Bombyx* dans le développement de la glande séricigène embryonnaire.
KOKUBO H., UENO K., AMANAI K., SUZUKI Y.

National Institute for Basic Biology, Myodaiji-cho, Okazaki 444, Japan.
1997 *Developmental Biology*, Vol. 186, 46-57. (E)

Cloning of 5'ends and 5'flanking regions of fibroin gene of *Antheraea yamamai*.

Clonage des extrémités 5' et des régions flanquantes en 5' du gène de la fibroïne d'*Antheraea yamamai*.

MENG Z. *et al.*

1997 *Canye Kexue*, Vol. 23(3), 183-184. (C)

Characterization of fibroin biosynthesis in the 5th instar of *Bombyx mori*.

Caractérisation de la biosynthèse de la fibroïne au 5ème âge larvaire de *Bombyx mori*.

RHEE I.J., YEO J.H.

College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu, Korea Republic.

1996 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 38(2), 180-185. (Ko,e)

Preferential codon usage and two types of repetitive motifs in the fibroin gene of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*.

Usage préférentiel des codons et deux types de motifs répétitifs dans le gène de la fibroïne du ver à soie du chêne chinois *Antheraea pernyi*.

YUKUHIRO K., KANDA T., TAMURA T.

Department of Insect Genetics & Breeding, National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1997 *Insect Molecular Biology*, Vol. 6(1), 89-95. (E)

Soie

Silk

Dyeing of silk and ramie fabrics with sappan wood.

Teinture des tissus de soie et de ramie avec du bois de sappan.

CHUNG I.M., LEE Y.W., WOO S.O., LEE K.G., CHOI H.K.

National Sericulture and Entomology Research Institute, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1996 Korean Journal of Sericultural Science, Vol. 38(2), 175-179. (Ko,e)

Halogenation of sericin.

Halogénéation de la sérécine.

FURUHATA K.I., KUMENO Y., SAKAMOTO M.

Department of Organic and Polymeric Materials, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 O-okayama, Meguro-Ku, Tokyo 152, Japan.

1997 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 66(3), 156-162. (E)

Dyeing on silk with vat dye.

Teinture de la soie en cuve.

HWANG E.K., KIM M.S., LEE D.S., CHOI S.Y.

Korea Silk Research Institute, Chinju, Korea Republic.

1996 Korean Journal of Sericultural Science, Vol. 38(2), 175-179. (Ko,e)

Antibacterial activity of silk fabrics grafted with dimethylaminoethyl methacrylate.

Activité antibactérienne des tissus de soie greffés avec du diméthylaminoéthyl méthacrylate.

KAMIISHI Y.

1997 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 66(4), 288-289 (J)

Changes in properties of silk monofilament caused by drawing and hydrolysis.

Changements des propriétés du monofilament de soie causés par l'étirage et l'hydrolyse.

KIM D.K., CHOI J.H., TAKASHI K.

Department of Natural Fiber Science, Donga University, Pusan, Korea Republic.

1996 Korean Journal of Sericultural Science, Vol. 38(2), 160-167. (Ko,e)

Characterization of chromium-(6)-adsorption onto silk fabrics.

Caractérisation de l'adsorption du chrome-(6) par les tissus de soie.

KIM K.B., CHIN Y.G.

Department of Fiber Crafts, Chinju National University, Chinju, Korea Republic.

1996 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 38(1), 25-30. (Ko,e)

The dissolution and characterization of *Bombyx mori* silk fibroin in calcium nitrate-methanol solution and the regeneration of films.

Dissolution et caractérisation de la fibroïne de la soie de *Bombyx mori* dans une solution de méthanol et de nitrate de calcium et régénération des films.

MATHUR A.B., TONELLI A., RATHKE T., HUDSON S.

Fiber and Polymer Science Program, Box 8301, North Carolina State, University, Raleigh, NC 27695-8301, USA.

1997 *Biopolymers*, Vol. 42, 61-74. (E)

Spinnability of 'Gara-bo' spun silk yarn.

Capacité de filage des fils de soie "Gara-bo".

MATSUMOTO Y.I., TORIUMI K., MOROOKA H., HAKAWA K.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1, Tokida, Ueda 386, Japan.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(3), 163-168. (J,e)

Twisting machines for quality muga reeling.

Machines de torsion pour un dévidage de qualité pour le muga.

MISHRA S.N.

DCTC, Central Silk Board, Sualkuchi, Assam, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(3), 36-39. (E)

Defects in silk fabric.

Défauts des tissus de soie.

RAO N., NADIGER G.S.

Central Sericultural Training and Research Institute, Bangalore, India.

1997 *Indian Silk*, Vol. 36(1), 24-28. (E)

Treatment of silk and lycra printing wastewaters with the objective of water reuse.

Traitement des eaux utilisées pour l'impression de la soie et du lycra en vue de leur réutilisation.

RIGONI-STERN S., SZPYRKOWICZ L., ZILIO-GRANDI F.

Joseph Egli Italia Sri, Via Costa 19, 34124 Padova, Italy.

1996 *Water Science and Technology*, Vol. 33(8), 95-104. (E)

Statistical analysis of a feeling about wearing a hybrid-silk pantyhose.

Analyse statistique de la sensation du port de collants en soie mélangée.

SHO K., MIURA M., SAKAMOTO M., MORIKAWA H., IWASA M.

1997 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 66(4), 294-299. (J)

Optical rheometry of silk in aqueous LiBr solution.

Rhéométrie optique de la soie en solution aqueuse de LiBr.

SIDDIQUEE S.K., WILLCOX P.J., VAN EGMOND J.W., GIDO S.P.

Dept of Chemical Engineering, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts 01003, USA.

1997 *Macromolecules*, Vol. 30(18), 5372-5375. (E)

The role of alanin sequences in forming beta-sheets of spider dragline silk.

Le rôle des séquences d'alanine dans la formation des feuilletts bêta de la soie de la toile d'araignée.

SPEK E.J., WU H.C., KALLENBACH N.R.

Department of Chemistry, New York University, New York 10003, USA.

1997 *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, 5053-5054. (E)

Spider major ampullate silk (dragline): smart composite processing based on imperfect crystals.
La soie (toile) de la glande ampoulaire majeure : procédé de composite basé sur les cristaux imparfaits.

THIEL B.L., VINEY C.

University of Cambridge, Polymer and Colloids Group, Cavendish Laboratory, Madingley Road, Cambridge CB3 0HE, United Kingdom.

1997 Journal of Microscopy, Vol. 185(2), 179-187. (E)

Trigonal crystal structure of *Bombyx mori* silk incorporating a threefold helical chain conformation found at the air-water interface.

Structure en cristal trigonique de la soie de *Bombyx mori* incorporant une conformation en chaîne hélicoïdale à trois brins trouvée dans l'interface air-eau.

VALLUZZI R., GIDO S.P., ZHANG W., MULLER W.S., KAPLAN D.L.

Department of Polymer Science and Engineering, University of Massachusetts-Amherst, Amherst, Massachusetts 01003, USA.

1996 Macromolecules, Vol. 29(27), 8606-8614. (E)

Evidence of a cholesterol liquid crystalline phase in natural silk spinning processes.

Mise en évidence d'une phase cristalline liquide cholestérique au cours des procédés du filage de la soie naturelle.

WILLCOX P.J., GIDO S.P., MULLER W., KAPLAN D.L.

Department of Polymer Science and Engineering, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts 01003-4530, USA.

1997 Macromolecules, Vol. 29(15), 5106-5110. (E)

Studies on glucose oxidase immobilization with silk fibroin membranes.

Etudes sur l'immobilisation de la glucose oxydase sur des membranes de fibroïne de soie.

XU X., XU J., JI X., YUAN Z.

Department of Sericulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China.

1997 Canye Kexue, Vol. 23(3), 152-157. (C,e)

Thermal conductivities of fabrics made of silk or another textile materials.

Conductivités thermiques des tissus composés de soie ou d'autres matériaux textiles.

YAMADA A.

The Yokohama Center for Quality Control and Consumer Service, 5-57, Kitanaka-dori, Naka-ku, Yokohama, Japan.

1997 J. Seric. Sci. Jpn. Vol. 66(4), 266-271. (J,e)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.
- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.
- Remerciements.
- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

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

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

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

SETOYAMA K. (1982) 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.

* * *