

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 / <i>Thailand</i>)	LEGAY J.-M. (France)
BEAULATON J. (France)	LIU S.-X. (Chine / <i>China</i>)
BECK D. (France)	LU H.-S. (Chine / <i>China</i>)
BOSQUET G. (France)	MANO Y. (Japon / <i>Japan</i>)
CROIZIER G. (France)	MAUCHAMP B. (France)
COUBLE P. (France)	PERSOONS C.J. (Pays-Bas / <i>The Netherlands</i>)
DANDIN S.B. (Inde / <i>India</i>)	PRUDHOMME J.-C. (France)
DAS B.C. (Inde / <i>India</i>)	REALI G. (Italie / <i>Italy</i>)
DATTA R.K. (Inde / <i>India</i>)	SHIMURA K. (Japon / <i>Japan</i>)
DOIRA H. (Japon / <i>Japan</i>)	SHIRATA A. (Japon / <i>Japan</i>)
FONSECA T.C. (Brésil / <i>Brazil</i>)	SOMASHEKAR T.H. (Inde / <i>India</i>)
FOURCHE J. (France)	SONWALKAR T.N. (Inde / <i>India</i>)
FREDDI G. (Italie / <i>Italy</i>)	TAKAHASHI R. (Brésil / <i>Brazil</i>)
GOLDSMITH M.R. (USA)	TAZIMA Y. (Japon / <i>Japan</i>)
HORIE Y. (Japon / <i>Japan</i>)	TRENCZEK T. (Rép. tchèque / <i>Czech Republic</i>)
IATROU K. (Canada)	VAGO C. (France)
JOLLY M.S. (Inde / <i>India</i>)	VEY A. (France)
KOBAYASHI M. (Japon / <i>Japan</i>)	XIA J.-G. (Chine / <i>China</i>)
LEA H. Z. (Corée / <i>Korea</i>)	YAMASHITA O. (Japon / <i>Japan</i>)
	YANAGAWA H. (Japon / <i>Japan</i>)

SOMMAIRE – CONTENTS

Revue / Review

- Technical standards for commercial egg-production of bivoltine silkworm varieties used in China** 185
 Règles techniques appliquées pour la production commerciale d'œufs de vers à soie bivoltins en Chine 203
 CHEN YUYIN

Articles scientifiques / Scientific papers

- Genetic variation, correlation and path analysis in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.** 211
 Variation génétique, corrélation et analyse de régression multiple chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. 225
 K. P. JAYASWAL, S. MASILAMANI, V. LAKSHMANAN, S. S. SINDAGI & R. K. DATTA
- Development, structure and secretory activity of silk gland complex in the tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* (Drury) (Lepidoptera: Saturniidae)** 231
 Développement, structure et activité sécrétrice de l'appareil séricigène chez le ver à soie tasar tropical *Antheraea mylitta* (Drury) (Lepidoptera : Saturniidae) 247
 D. D. BARSAGADE & D. B. TEMBHARE

Rapports techniques / Technical reports

- A comparison of the hibernation and the acid treatment of the silkworm eggs, *Bombyx mori* for the cocoon production in tropics** 253
 Comparaison entre l'hibernation et le traitement à l'acide pour les œufs du ver à soie *Bombyx mori* destinés à la production de cocons en zone tropicale 263
 K. W. SOHN & L. RAMIREZ
- Bio efficacy of custard apple (*Annona squamosa*) formulations against mulberry pest, Bihar hairy caterpillar (*Spilosoma obliqua*, Walker) and mulberry silkworm, (*Bombyx mori* Linn)** 267
 Efficacité de formulations d'annone (*Annona squamosa*) contre la chenille poilue du Bihar (*Spilosoma obliqua*, Walker), un insecte parasite du mûrier, et le ver à soie (*Bombyx mori* Linn) 275
 G. V. RAMAN, M. SRINIVASA RAO, G. SRIMANNARAYANA & B. VENKATESWARLU
- Ranking of foliar constituents in morphotypes of muga food plant – *Machilus bombycina* King** 279
 Classement des constituants foliaires chez les morphotypes de la plante hôte du ver à soie muga – *Machilus bombycina* King 285
 K. SINGH, A. SRIVASTAVA, D. PRAKASH, P. K. DAS, A. A. SIDDIQUI & S. S. RAGHUVANSHI
- Pruning guide for oak tasar silkworm rearing in sub-Himalayas** 289
 Guide de taille pour l'élevage du ver à soie tasar du chêne dans les zones sub-himalayennes 295
 R. K. PANDEY

Note brève / Brief note

Explorative method to detect deterrent and stimulant in the food using *Bombyx mori* and *Mamestra brassicae* 297
Méthode exploratoire pour détecter les antiappétants et les stimulants dans la
nourriture en utilisant *Bombyx mori* et *Mamestra brassicae* 303
T. SHIMIZU

Bibliographie / Bibliography 307

Sériciculture générale / General sericulture 309
Mûrier / Mulberry 311
Bombyx mori : élevage, nutrition, pathologie / *Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology . 317
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non-mulberry silkworms: rearing,
feeding, pathology 321
Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics 323
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: Physiology, biochemistry 329
Vers à soie : oeufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology 339
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms: silk glands 341
Soie / Silk 343

Instructions aux auteurs / Information for contributors

TECHNICAL STANDARDS FOR COMMERCIAL EGG-PRODUCTION OF BIVOLTINE SILKWORM VARIETIES USED IN CHINA

CHEN YUYIN

Department of Sericulture and Apiculture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, P.R. China.

INTRODUCTION

China is the cradle of sericulture in history and the biggest country in silk production in the world at present. The commercial silkworm varieties used in China are all the bivoltine hybrids that not only have the high quantitative and good quality characters but are healthy as well.

It is well known that it is a necessity to let eggs of the bivoltine varieties go to diapause in order to properly manage egg supply in practical production and increase the silk quantity and quality. Based on the research results and accumulated practical experiences from commercial egg production in China over the years, following principles are very important to produce diapaused eggs from bivoltine silkworm, especially that contains multivoltine blood.

Firstly, the standard conditions for egg incubation should be strictly controlled.

Secondly, special techniques and proper protections should be adopted from the whole process from hatching to egg production.

Thirdly, the optimum mature leaves should be fed according to physical requirements of each larvae instar.

The diapaused eggs will not hatch under natural condition in 10-12 days after egg laid since they enter into hibernation. However, these eggs can be made to hatch whenever required within 10 days to one year. By following specific treatment or preserving under different hibernation schedules, the hybrid eggs can be supplied for cocoon production year round whenever there is a demand.

Here is the summarisation of the detailed standards adopted for different stages in commercial egg production and processing of bivoltine varieties in China, some of the techniques, which are very practical, had never been published in English. This paper might be helpful for reference in commercial egg production and management.

Standard conditions for incubation:

Proper control of incubation for parent silkworm eggs is:

To ensure eggs of different varieties to hatch on the designated dates, therefore, moths of two reciprocal crossing varieties are to emerge at the same time so as to properly produce F1 hybrid eggs.

To enforce uniform hatching and obtain the healthy newly hatched silkworms.

To stabilise the hibernating character of the bivoltine eggs, thus avoiding the occurrence of non-hibernating eggs and abnormally hatched eggs.

The incubation criterions for bivoltine parent eggs are different according to rearing seasons. Incubation criterion for bivoltine parent eggs in spring is shown in table I, for summer and autumn season in table II.

Table I. Incubation criterion for parent silkworm eggs in spring.

Tableau I. Critères d'incubation pour les œufs de vers à soie parents au printemps.

Date in sequence from Beginning of incubation	date 1-4	date 5-10	date 11
<i>Séquence à partir du début de l'incubation</i>			
Development stage of embryo <i>Stade de développement de l'embryon</i>	C2 – E2	E3 – F5	hatching / <i>éclosion</i>
Designated temperature (° C) <i>Température désignée (° C)</i>	22	25.5-26	26
Relative humidity (%) <i>Humidité relative (%)</i>	75-80	80	80-85
Light <i>Lumière</i>	natural light <i>lumière naturelle</i>	light exposure for 18 hours a day <i>exposition à la lumière pendant 18 heures par jour</i>	light exposure at 4 – 6 am <i>exposition à la lumière entre 4 et 6 h</i>

Note :

1. Light exposure for 18 hours a day means to add 6 hours artificial light / *Exposition à la lumière pendant 18 heures par jour signifie qu'il faut ajouter 6 heures de lumière artificielle.*
2. F5 stage should be in the completely dark / *Le stade F5 doit être complètement dans l'obscurité.*

Table II. Incubation standard for parent silkworm of summer and autumn rearing season.

Tableau II. Règles d'incubation pour les vers à soie parents pendant les saisons d'élevage d'été et d'automne.

Stage	Early stage	Later stage
<i>Stade</i>	<i>Premier stade</i>	<i>Dernier stade</i>
Developing dates (day) / <i>Dates de développement (jour)</i>	4	5-6
Developing stage of embryo <i>Stade de développement de l'embryon</i>	C2-E2	E3-F5
Expected temperature (° C) / <i>Température prévue (° C)</i>	24	25.5-26.5
Relative humidity (%) / <i>Humidité relative (%)</i>	75-80	85-90
Light / <i>lumière</i>	natural light <i>lumière naturelle</i>	light exposure for 18 hours a day <i>exposition à la lumière pendant 18 heures par jour</i>

Note : same as table I / *Note : comme pour le tableau I.*

Table III. Criterion of optimum-mature leaves for young larvae.

Tableau III. Normes pour la sélection des meilleures feuilles matures pour les jeunes larves.

Instar	Leaf color	Leaf position	Water percentage (%)
Age	Couleur de la feuille	Position de la feuille	Pourcentage d'eau (%)
1.	light green <i>vert clair</i>	the biggest leaf or the one up the biggest at the top of a new shoot <i>la plus grosse feuille ou celle au-dessus de la plus grosse au sommet d'une nouvelle pousse</i>	78-79
2.	green <i>vert</i>	the biggest leaf or the next three below the biggest at the top of a new shoot <i>la plus grosse feuille ou les trois feuilles en-dessous de la plus grosse au sommet d'une nouvelle pousse</i>	75-76
3.	dark green <i>vert foncé</i>	the mature leaves in new shoots or growth-ended shootlets <i>les feuilles matures sur de nouvelles pousses ou des rameaux dont la croissance est terminée</i>	73-74

Criteria for inhibition on incubating silkworm eggs or newly hatched larvae:

For any particular reason, if the brushing of the newly hatched larvae has to be delayed, the incubating silkworm eggs or the newly hatched larvae should be inhibited at certain conditions. The general method is to practice cool inhibition in two stages, that is when all the eggs have turned into blue - the F5 stage or 'blue egg' stage and the newly hatched larvae.

Inhibition of "blue eggs":

Put the "blue eggs" into the dark box and store at 5° C, remember when the eggs are put into or taken out the cold storeroom, they should go through the intermediate temperature of 10-13° C for 2-3 hours. The safety time for cold inhibition is 3-5 days.

Inhibition of newly hatched silkworm:

Newly hatched silkworm can be inhibited at a temperature of 5-10 °C and a relative humidity 75% for 2-3 days. When the newly hatched silkworm are taken into or release from the cold storeroom, it is also necessary to go through the intermediate temperature of 10-13° C for 2-3 hours.

Generally speaking, the inhibition of "blue egg" stage (F5) is better than that of newly hatched silkworm, but either one will affect the growth and development of silkworm larvae, the longer the inhibition time, the worse the growth and development of silkworm larvae. Therefore, the cold inhibition time should be as shorter as possible.

Criterion of optimum mature leaves:

The quality of mulberry leaves affects the economic properties of the present generation of silkworm, such as silkworm physique, cocoon quality, egg quality, voltinism and moltinism etc., and also affects the rearing results of the next generation of silkworm. Experiments showed that the requirement of parent silkworm for mulberry leaves is: for young larvae, gross protein 23-25%, soluble carbohydrate 11-13%; for grown larvae, gross protein 22-23%, soluble carbohydrate 14-16%.

The young stage (1-3 instars) is the stage of body development in which the larvae grow fast. The improper supply of nutrients from the food, will greatly affect successfulness of the crop and can not be made up at the later stage. The criterion of optimum-mature leaves for young larvae is shown in table III.

The grown stage (4-5 instar) is the stage when the accumulation of nutritional matter is by leaps and bounds, thus ensuring the growth and development of the reproductive cells and the silk glands. It has been proved by experiments that the number of eggs formed has a close correlation with the nutrients absorbed by the larvae in the fourth and fifth instars. If the larvae were in a condition of malnutrition, it would lead to less egg formation, small egg size and weak resistance to adverse climatic conditions. The proper way to collect mulberry leaves is, to pick the grown ended leaves first, then to use the new shoot leaves. In order to ensure the maturity of leaves at the top of the new shoots, decapitation should be done 7 days before use.

Rearing standard for parent silkworm larvae:

Most of the parent strains are pure lines, some are hybrids of different lines or inbreeding. As the parent strains are rather weak in constitution, it requires to be provided with better food, rearing environmental conditions and technical handling. The good development, strong physique and fine cocoon quality of the parent silkworms is to ensure the high quantity and good quality of commercial F₁ hybrid eggs and a successful crop of next generation. Standard conditions for the rearing of parent silkworm larvae are listed in table IV.

Standard condition for the protection of seed cocoon and egg production:

Standard for preservation of seed cocoon:

It is of utmost importance that seed cocoons be preserved at proper condition, in order to get the highest eclosion rate, the highest number of eggs laid by a moth and the lowest rates of unfertilized eggs and dead eggs.

At the beginning of the mounting stage, 25 ° C is the ideal temperature; after the cocoon shape is formed, 24 ° C is better. The preservation of seed cocoon generally needs 24 ° C as ideal temperature, a range of 23-25 ° C. The relative humidity: 75-80% is the ideal, 70-85 is safe.

Early cocoon collection technique:

The cocoon collection time for seed cocoon is different from cocoon production, that is the early cocoon collection technique. It has been proved that the early cocoon collection can decrease the number of tail-shrunk pupae, rate of dead worm cocoons and rate of abnormal moth, increase the moth eclosion rate and the number of egg laid per moth, so that to improve the egg quality and quantity. Meanwhile, the utilisation rate of moutage is increased.

The method is: under 25-26 ° C during cocoon spinning, 40-60 hours (50 hour as the center) for multivoltine and 48-72 hours (60 hour as the center) for bivoltine after peak mounting. Examine the sample cocoon before collection starts. Standards: cocoon shell is already hard, spinning just finished, but no pupation yet. If pupation has already started, stop cocoon collection. change to late cocoon collection.

Table IV. Standard for parent silkworm rearing.

Tableau IV. Normes pour l'élevage des vers à soie parents.

Instar		1 st instar	2 nd instar	3 rd instar	4 th instar	5 th instar
Temp. (° C)	Spring rearing varieties	27	27	26	25	24.5-24
	Summer and autumn rearing varieties	27.5-28	27.5-28	26.5-28	25	24.5-24
	Age	1 ^{er} âge	2 ^{ème} âge	3 ^{ème} âge	4 ^{ème} âge	5 ^{ème} âge
Température (° C)	Variétés d'élevage de printemps	27	27	26	25	24.5-24
	Variétés d'élevage d'été et d'automne	27.5-28	27.5-28	26.5-26	25	24.5-24
Relative humidity (%)		90	90-85	85-80	80-75	80-70
Humidité relative (%)						
Rearing style <i>Type d'élevage</i>		Covered and matted rearing with paraffin paper (or polyester sheet) <i>Elevage recouvert et tapissé avec du papier de paraffine (ou une feuille de polyester)</i>		Covered rearing with paraffin paper (or polyester sheet) <i>Elevage recouvert avec du papier de paraffine (ou une feuille de polyester)</i>		No cover, rearing tray or rearing table <i>Pas de couverture, plateau ou table d'élevage</i>
Feeding times per day <i>Nbre de repas par jour</i>		3-4	3-4	3-4	4	4
Largest rearing bed* (tray) <i>Litière la plus grande* (plateau)</i>		0.5m ²	2	4	8	12
Leaf cutting shape <i>Forme de la feuille à la coupe</i>		square <i>carrée</i>	square <i>carrée</i>	triangle	whole leaf (cutting leaves for first and last feeding) <i>feuille entière (couper les</i>	whole leaf or shoot leaves once a day <i>feuille entière ou des rameaux</i>
Leaf size <i>Taille de la feuille</i>		1.5-2 times longer than the body length <i>1,5 à 2 fois plus longue que le corps</i>		rough cutting <i>coupe sommaire</i>	<i>feuille entière</i> <i>1 fois / jour</i> <i>feuilles pour le 1er et le dernier repas)</i>	
Bed cleaning times <i>Nbre de délitages</i>		1	2	3	3	once a day <i>une fois / jour</i>
Special note <i>Note spéciale</i>		Spread burnt husky before molting net, Light feeding for first and last feeding each instar, sufficient feeding in the gluttonous stage <i>Saupoudrer des cendres avant la pose du filet de mue</i> <i>Premier et dernier repas léger à chaque âge.</i> <i>Assez de nourriture pendant le stade gloton</i>			Pay attention to ventilation of the rearing room, enough feeding in fifth instar, prevent withering or heating of the mulberry leaves <i>Faire attention à la ventilation de la pièce d'élevage, assez de nourriture pendant le 5ème âge éviter le flétrissement ou la chaleur pour les feuilles de mûrier</i>	

* Note : the largest rearing bed means rearing bed for the amount of 4g newly hatched silkworms / La litière la plus grande signifie la litière pour 4 g de vers à soie nouvellement éclos.

Synchronisation of moth emergence:

Synchronisation of moth emergence should start at the beginning of egg incubation. However, it is possible to adjust pupae development by controlling different temperature for pupa protection. It is safe to regulate emergence of the moth between 21-27° C. The adjustable temperature range: not lower than 22° C and higher than 27° C for female pupae, and not lower than 21° C and higher than 28° C for male pupae. Within this range, if the protection temperature for pupae increased or decreased by 2° C, moth emergence can be one day earlier or later. If it is necessary, the male pupae can be cold-stored under 7-10° C for less than 3 days after first moth emergence. No cold storing for female pupae.

Standard for egg production:

Copulation: 24° C is the ideal temperature, avoiding temperature over 27° C or below 21° C. Relative humidity is maintained at 75-80%. The mating room should be quiet, with deem light and no breeze.

Oviposition: It is fitting to set it at 24-25° C and 75-85%, avoiding temperature over 30° C. The oviposition room should be kept dark with some fresh air.

Sampling standard for examination of pebrine disease:

Pebrine disease of *Bombyx mori* is caused by the parasitic spore of *Nosema bombycis* which belongs to the family Nosematidae. It is transmitted to the offspring either through oral or maternal infections. This caused great damage to the silk industry. It was because of the epidemic of pebrine that sericulture in France, Italy and other countries was nearly wiped out. The so-called "disease-free eggs" means the silkworm eggs which do not carry the spore of *Nosema bombycis*. For the purpose of securing disease-free eggs and avoiding losses in production, measures for checking the quality of silkworm breeding and egg multiplication have been worked out and qualified standard for the examination of the mother moths are established.

Sampling:

For the parent moths, all should be boxed for examination according to their serial numbers. As for the F1 hybrids, samples of the moths are taken according to table V.

Standard condition for the preservation of silkworm eggs:

The preservation of silkworm eggs is the management and protection of the eggs during the period from laid to hatching of the hibernating eggs. In the hibernating variety, it does not only take a long time from the laying of eggs to hatching, but it has to pass the hot summer and cold winter as with those laid in spring. Proper preservation condition must be kept in accordance with the physiological requirement and development of the eggs so as to decrease dead eggs, ensure uniform hatching, strong larvae physique of next generation and good crop of sericultural production.

Preservation of eggs produced in spring until the following spring:

These silkworm eggs are produced in spring and preserved for supplying the rearing crop of the next spring. After the eggs are laid, an embryo gradually developed, and the embryo enters a state of diapause. According to the physiological requirement of different embryo stages and seasons, the corresponding standard condition for the preservation of spring-produced hibernating eggs is shown in table VI.

Experience has shown that 25° C is the safest temperature in summer to stabilise the diapause of the eggs. High temperature over 30° C is very harmful to the physiological activities of the eggs and low temperature below 20° C may disturb the diapause of the eggs, making the hibernating eggs unable to withstand cold storing, and affect the uniformity in embryonic development.

Table V. Sampling for mass pebrine inspection of P₁ moths for F₁ hybrids and qualified standard.

Tableau V. Echantillonnage pour une inspection pébrine en masse de papillons P₁ pour les hybrides F₁ et normes agréées.

Boxes of Gross eggs	Moth number per lot (No.)	Sample size		sampled rate (%)	Allowed pebrine Contaminated moth		Confidence (%)	
		n1 (box)	n2 (box)		C1	C2	n1	n1 + n2
		<i>Taille de l'échantillon</i>		<i>Taux d'échan- tillonnage (%)</i>	<i>Nbre autorisé de contaminés par la pebrine</i>		<i>Tolérance (%)</i>	
<i>Boîtes d'oeufs</i>	<i>Nbre de papillons par lot</i>	<i>n1 (boîte)</i>	<i>n2 (boîte)</i>		<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>n1</i>	<i>n1+n2</i>
below 25	below 1000	all		100.0		0	100.0	
< 25	< 1000	<i>tous</i>		100.0		0	100.0	
26-50	1001-2000	<i>all / tous</i>		100.0		2	100.0	
51-75	2001-3000	32	32	96.0	0	4	99.70	99.37
76-100	3001-4000	43	43	86.0	1	6	99.57	99.42
101-150	4001-6000	48	48	72.0	1	7	99.73	99.28
151-250	6001-10000	61	61	61.0	2	9	99.70	99.40
251-500	10001-20000	67	67	40.2	2	10	99.82	99.34
501-1000	20001-40000	74	74	22.2	2	11	99.91	99.47
1001-1500	40001-60000	81	81	12.2	3	12	99.83	99.53
1501-2000	60001-80000	85	85	8.5	3	13	99.89	99.52
2001-2500	80001-100000	89	89	6.7	3	14	99.92	99.42
2501-3000	10001-120000	94	94	5.6	4	15	99.84	99.40
3001-3500	120001-140000	98	98	4.9	4	16	99.90	99.42
3501-4000	140001-160000	102	102	4.4	4	17	99.93	99.42
4001-4500	160001-180000	107	107	4.0	5	18	99.87	99.42
4501-5000	180001-200000	111	111	3.7	5	19	99.92	99.42
5001-5500	200001-220000	115	115	3.5	5	20	99.95	99.43
5501-6000	220001-240000	120	120	3.3	6	21	99.90	99.45
6001-6500	240001-260000	128	128	3.2	7	23	99.87	99.40
6501-7000	260001-280000	140	140	3.2	8	26	99.89	99.38
7001-7500	280001-300000	148	148	3.2	9	28	99.87	99.35
7501-80000	300001-320000	157	157	3.1	10	30	99.86	99.39
8001-8500	320001-340000	165	165	3.1	11	32	99.84	99.36
8501-9000	340001-360000	174	174	3.1	12	34	99.83	99.41
9001-9500	360001-380000	185	185	3.1	13	37	99.86	99.36
9501-10000	380001-400000	193	193	3.1	14	39	99.84	99.35

Note : 1. **n1** : the first sample, **n2** : the second sample / **n1** : le premier échantillon, **n2** : le deuxième échantillon.

2. **C1** : number of allowed pebrine-contaminated moths from first sample, **C2** : the total allowed / **C1** : nombre autorisé de papillons contaminés par la pébrine dans le premier échantillon. **C2** : total autorisé de papillons contaminés par la pébrine dans le premier et le second échantillon.

3. Containing 30 moths per moth-box / contenant 30 papillons par boîte de papillons.

Table VI. Standard conditions of preservation for spring-produced hibernating eggs.

Tableau VI. Conditions standards de conservation des œufs hibernant produits pour le printemps.

Stage	Temp. (° C)	Humidity (%)	Cautions
<i>Stade</i>		<i>Humidité (%)</i>	<i>Précautions</i>
Within one week after egg deposition <i>Une semaine après la ponte des œufs</i>	23-24	75-80	Avoid crushing and rubbing the eggs, the egg cards should be hung in well ventilated rooms. For some varieties which tend to lay non- hibernating eggs, eggs should be protected under 20° C for 5-7 days. <i>Éviter d'écraser et de frotter les œufs, les cartons de ponte doivent être suspendus dans des pièces bien ventilées. Pour les variétés qui ont tendance à pondre des œufs qui n'hibernent pas, les œufs doivent être protégés à 20° C pendant 5-7 jours.</i>
Summer and early autumn . Late June - early Sept <i>Été et début de l'automne</i> <i>Fin juin -début sept.</i>	24-26.5	75-80	Avoid temperature over 28° C and pay attention to ventilation and prevent from moldy <i>Éviter la température au-dessus de 28° C. faire attention à la ventilation et prévenir la moisissure.</i>
Early and mid autumn mid Sept. - early nov. <i>Début et milieu de l'automne</i> <i>mi sept - début nov.</i>	24-18	75-80	Temperature should be decreased gradually. Avoid temperature below 18° C <i>La température doit être baissée petit à petit. Éviter une température au-dessous de 18° C</i>
Winter - Mid. Nov. Late Nov. - early Dec. <i>Hiver - Mi-Nov.</i> <i>Fin Nov. - début Dec.</i>	18-13 13-10	75-80	During mid and late Nov., a little higher temperature is favorable. During Dec., the lower, the temperature is the better, avoid temperature over 10° C. <i>De la mi à la fin novembre, une température un peu plus élevée est favorable. En décembre, plus la température est basse, mieux c'est, éviter une température supérieure à 10° C.</i>
Before bathing -storage <i>Avant le bain -</i> <i>stockage</i>	7.5-5	75-80	Avoid temperature over 10° C <i>Éviter la température au-dessus de 10° C.</i>

Note : From mid autumn to winter, avoid especially temperature reversion and too dry air through heating action.

De la mi-automne à l'hiver, éviter surtout les changements de température et l'air trop sec à cause du chauffage.

As to the duration of preservation, no inhibition to diapause occurs when the eggs are kept at 25° C for 90 days. The longer the duration, the deeper the degree of diapause, the slower it breaks the diapause and the longer it will withstand cold storing. If the duration of preservation is over 90 days, the time for the eggs to withstand cold storage will be shorter and the hatching of the eggs will be

unsatisfactory. For the safety purpose in production, it is advisable to preserve the eggs within 60 days at 25° C in summer.

Preservation of autumn eggs till the following spring:

Silkworm eggs produced in autumn for supplying the following spring crop are called autumn-produced hibernating eggs. When the duration of eggs preservation is shorter, the nutrients in the eggs are less consumed and it is easy to maintain the quality of the eggs.

In order to stabilise the diapause and increase the cold storage withstanding of hibernating eggs produced in autumn, artificial aestivation must be employed. Within one week after egg deposition, the preservation condition is the same as that for spring-produced hibernating eggs. Artificial aestivation condition: temperature 24-25° C, relative humidity 80%. Duration of artificial aestivation: 30 days for early autumn produced eggs, 15-20 days for mid and late autumn produced eggs. After that, the temperature should be decreased gradually by 1° C every other day until reaching the natural temperature. Then they will be treated the same as spring-produced eggs do.

For some varieties which contained multivoltine blood and easy to produce non-hibernating eggs, special treatment should be adopted. Except the preservation of eggs at 20° C within the first 5-7 days after eggs were laid, the key point is to prolong the duration of artificial aestivation. After the eggs acquire their inherent colour, the eggs should be preserved at 24-25° C for 30 days, then 20-18° C from mid November to early December, after that, the temperature should be decreased gradually, washing the eggs in late December.

Standards for disinfecting the egg surface:

In order to get rid of the scaly hair, urine and pathogenic microorganisms attached to the surface of the silkworm eggs, it is necessary to wash and disinfect the eggs. This procedure can be done 2 weeks after oviposition or just before transferring the eggs into cold storeroom. The standard for disinfecting egg surface is listed in table VII.

Standard for acid treatment for artificial hatching:

Under normal conditions, the hibernating silkworm eggs after being laid, are in the diapause state within the year. Whatever optimum temperature is provided, they will not hatch. Only after over wintering and coming into contact with low temperature for a certain period, can the silkworm eggs develop and hatch in the coming warm spring. In order to multiply the crops of silkworm rearing in the same year, hydrochloric acid treatment is widely adopted to break down the diapause of the hibernating eggs at a certain embryonic development stage, so that they will hatch normally at the date expected.

Standard of acid treatment for common acid-treatment eggs:

The artificial hatching by common acid treatment demands an immediate hydrochloric acid stimulation right after the eggs are laid and prior to appearance of hibernating characters to block the hibernating tendency and make the embryo continue development into hatching instead of entering diapause.

To conduct acid treatment at an appropriate time is of special significance. The best time for acid treatment is during the time when the fusion of the amnion fold is completed and an independent embryo is formed. Generally, it is ideal to conduct in 20 hours after eggs laid at the temperature of 24-25° C. The appropriate time for acid treatment refers to table VIII, and the standard for acid treatment in practical production is listed in Table IX.

The irritation of hydrochloric acid on silkworm eggs is due to the integrated action of three factors: concentration of hydrochloric acid (HCl), temperature and duration of treatment. Among them, the concentration of HCl plays the most important role.

Table VII. Standard for disinfecting egg surface.

Tableau VII. Normes de désinfection de la surface des œufs.

Type	Loose eggs <i>Œufs en vrac</i>	Eggs on card <i>Cartons de ponte</i>
Concentration of disinfectant <i>Concentration du désinfectant</i>	Bleaching liquid contains 0.33% available chlorine as center concentration, controlled within 0.30-0.35% available chlorine. <i>Eau de javel contenant 0,33 % de chlore disponible comme concentration centrale située entre 0,30 à 0,35 % de chlore disponible</i>	formaldehyde 2-4%
Liquid temperature of disinfectants <i>Température des désinfectants liquides</i>	Set 13° C as the centre, controlled between 10-15° C <i>Se fixer 13° C comme moyenne située entre 10 et 15° C</i>	20° C
Soaking time <i>Temps de trempage</i>	10 minutes	40 minutes

Note : For silkworm varieties contained multivoltin blood and varieties that are easy to cause white shell eggs, the available chlorine concentration of the bleaching liquid should be 0.30%. / *Pour les variétés de ver à soie contenant du sang polyvoltin et les variétés qui donnent facilement des coques blanches, la concentration en eau de javel doit être de 0,30 %.*

Table VIII. Optimum time of acid treatment for common acid-treatment bivoltine eggs.

Tableau VIII. Moment optimum pour le traitement courant à l'acide des œufs bivoltins.

Preservation temperature After egg deposition (° C)	Egg age after oviposition (hours)	Range for appropriate time (hour)	Accumulated effective temperature (° C)
<i>Température de conservation après la ponte des œufs (° C)</i>	<i>Age de l'œuf après la ponte (heures)</i>	<i>Ecart permis (en heures)</i>	<i>Température effective accumulée (° C)</i>
21	25-40	5	275-440
24	20-30	10	280-420
27	15-25	10	255-425
29	15-25	10	255-425

Note : 1. The accumulated effective temperature is added from 10° C, temperature below 10° C is considered to be ineffective. / *La température effective accumulée est ajoutée à partir de 10° C, la température au-dessous de 10° C est considérée comme inefficace.*

Table IX. Standard condition of acid treatment for common acid-treatment eggs.

Tableau IX. Conditions standards d'acidité pour le traitement courant des œufs à l'acide.

Province	Specific gravity of Hydrochloric acid	Liquid temperature	Dipping duration	
	<i>Densité de solution en acide chlorhydrique</i>	<i>Température liquide</i>	Japanese race	Chinese race
			<i>Durée du trempage</i>	
			<i>Race japonaise</i>	<i>Race chinoise</i>
Jiangsu Sichuan	1.075	46	5.5	5
Zhejiang	1.072	46	5.5	5
Guangdong	1.075	46	4.5-5.5	4-5

Note : The specific gravity of hydrochloric acid is determined when the liquid temperature is 46° C. / *La concentration spécifique en acide hydrochlorique est déterminée quand la température liquide est de 46° C.*

Artificial hatching by acid treatment after cold stored:

An acid treatment of the silkworm eggs after cold storage is an artificial hatching method in which the hibernating eggs go through a certain period in cold storage first, then are subjected to acid treatment. The actual procedure is as follows.

Optimum time for cold storage:

From the view of embryonic development, the optimum time for cold storage is when the embryo becomes distinct with an enlarged protocephalic lobe, an expanded caudal lobe and the formation of the mesoderm. The practical method for judgement of optimum time for cold storage is concluded in table X.

Standard for acid treatment to diapaused eggs after cold storing:

Standard for acid treatment to diapaused eggs after cold storage is according to the practices in Canton Province of China. The longest time of cold storage for diapause eggs is shown in table XII. The minimum time of cold storage is 50-60 days and the acid treatment condition is the same as aforementioned in table XI.

Standard for the application of hydrochloric acid treatment under room temperature:

Acid treatment for artificial hatching can also be conducted under room temperature, the standard is described in table XIII.

Standard for Low temperature inhibition to eggs before or after acid treatment:

Low temperature inhibition for artificial hatching silkworm eggs is a temporary measure to defer, owing to factual necessities, the development of silkworm eggs. This is a method frequently employed in production.

Table X. The optimum time for cold storage of eggs by acid treatment after refrigeration.

Tableau X. Moment optimum pour le stockage au froid des œufs traités à l'acide après la réfrigération.

Planned duration for cold storage (day)	Egg colour when put into storeroom	Duration after eggs oviposition at the temperature of 24° C or lower (hours)	Accumulated effective temperature (° C)
<i>Durée prévue de stockage au froid (jours)</i>	<i>Couleur des œufs quand ils sont placés dans la salle de stockage</i>	<i>Durée à une température inférieure ou égale à 24° C (heures) après la ponte des œufs</i>	<i>Température efficace accumulée (° C)</i>
35-45	Light reddish bean colour <i>Rouge clair comme un haricot</i>	40-48	560-572
45-70	brown bean colour <i>Couleur de haricot marron</i>	49-54	686-756
Over 70 > 70	near inherent colour <i>Proche de la couleur inhérente</i>	55-60	770-840

Notes:

1. Accumulated effective temperature is counted from 10° C, below 10° C is considered ineffective temperature.
1. La température efficace accumulée est comptée à partir de 10° C, une température au-dessous de 10° C est considérée comme une température inopérante.

2. Before the eggs are put into the cold storeroom, they should go through an intermediate temperature of 10-13° C in a vestibule for 6-12 hours first. Then put into cold storeroom at 5° C. After 40 days in the cold storeroom, lower the temperature to 2.5° C. The limited duration for cold storage is 40-80 days.

2. Les œufs doivent d'abord passer par une température intermédiaire de 10 à 13° C pendant 6 à 12 heures, avant d'être mis dans la pièce froide de stockage. Puis il faut les mettre dans la pièce de stockage froide à 5° C. Après 40 jours dans la pièce froide, baisser la température à 2,5° C. La durée limite pour le stockage au froid est de 40 à 80 jours.

Low temperature inhibition before common acid treatment:

For certain reasons when common acid treatment cannot be carried out at the set time, it is feasible to inhibit the development of the silkworm eggs temporarily with a low temperature and then conduct acid treatment later on. But there must be an adherence to the following rules, otherwise it will fail.

Silkworm eggs after oviposition could be preserved at 24-25° C for 18-22 hours, and it is essential to transfer to the cold storeroom within this range of time. Prior to entering the main cold storeroom, the silkworm eggs should be kept in the vestibule at a temperature of 10-13°C for 2 hours. The temperature of the cold storeroom is maintained at 5° C, eggs should not be kept more than 5 days and the shorter the better.

Table XI. Standard for acid treatment of eggs after cold storage.

Tableau XI. Normes pour le traitement à l'acide des œufs après le stockage au froid.

Province	Specific gravity of Hydrochloric acid	Liquid temperature (° C)	Dipping duration	
			Japanese race	Chinese race
			<i>Durée de trempage</i>	
	<i>Densité de solution d'acide chlorhydrique</i>	<i>Température liquide</i>	<i>Race japonaise</i>	<i>Race chinoise</i>
Jiangsu Sichuan	1.092	47.8	6.5	6
Zhejiang	1.094	47.8	6.5	6
Guangdong	1.092	47.8	6-7	5.5-6

Note : The specific gravity of hydrochloric acid is determined when the liquid temperature is 47.8° C. / La densité spécifique en acide chlorhydrique est déterminée quand la température du liquide est de 47.8° C.

Table XII. Longest time of cold storage for diapaused eggs.

Tableau XII. Durée maximum de stockage au froid pour les œufs diapausés.

Egg age after oviposition at the temperature of 24-25° C (day)	Dates to be put into intermediate temperature at 13-15° C (day)	Longest time of cold storage (day)
<i>Age de l'œuf après la ponte à une température de 24-25° C (jours)</i>	<i>Durées pendant lesquelles ils doivent être placés à une température intermédiaire à 13-15° C (jours)</i>	<i>Durée maximum de stockage au froid (jours)</i>
7-10	3-5	90-110
10-20	5-7	110-130
20-25	10-15	130-150
25-30	15-20	over 150 / au-dessus de 150

Table XIII. Standard condition of acid treatment for eggs by room temperature.

Tableau XIII. Normes de traitement à l'acide pour les œufs à température ambiante.

Egg age after oviposition at 24° C or lower (hours)	Dipping duration (minute)			Specific gravity of hydrochloric acid
	Liquid temperature 24° C	Liquid temperature 27° C	Liquid temperature 29° C	
Age de l'œuf après la ponte à 24° C ou moins (heures)	Durée du trempage (minutes)			Densité spécifique en acide chlorhydrique
	Température liquide 24° C	Température liquide 27° C	Température liquide 29° C	
10	60-70	40-70	40	
15	60-80	60-80	40-50	1.100
20-25	60-100	60-80	40-50	

Table XIV. Standards for single-step cold storage.

Tableau XIV. Normes de stockage au froid en une seule étape.

Factors	Supply for next spring rearing crop
Facteurs	Date d'obtention pour le prochain élevage du printemps
Hybrid eggs produced <i>Œufs hybrides produits</i>	Early or mid June <i>Début ou mi-juin</i>
Time to enter the cold storeroom <i>Moment d'entrée dans la pièce de stockage à froid</i>	Early or mid February of next year <i>Début ou mi-février de l'année suivante</i>
Developing stage of the embryo <i>Stade de développement de l'embryon</i>	C1-C2
Cold storage temperature (° C) <i>Température de stockage au froid (° C)</i>	2.5
Incubation date <i>Date d'incubation</i>	Mid or late April <i>mi ou fin avril</i>

Note : The longest time for cold storage is within 90 days / *La durée maximum de stockage au froid est de 90 jours.*

Table XV. Criterion for two-step cold storing eggs.

Tableau XV. Normes pour le stockage des œufs au froid en deux étapes.

	Factors	For spring rearing crop	For summer rearing crop	For early autumn rearing crop
	Facteurs	Pour la récolte du printemps	Pour la récolte d'été	Pour la récolte du début de l'automne
First time cold storage <i>Première étape du stockage au froid</i>	Cold storing date <i>Date de stockage à froid</i>	mid Jan. <i>mi-janvier</i>	mid Jan. <i>mi-janvier</i>	mid Jan <i>mi-janvier</i>
	Developing stage of embryo <i>Stade de développement de l'embryon</i>	A	A	A
	Cold storage temperature (° C) <i>Température de stockage à froid (° C)</i>	2.5	0	0
Intermediate temp. <i>Température intermédiaire</i>	Time <i>période</i>	mid or late Feb. <i>mi ou fin février</i>	Early Apr. <i>début avril</i>	mid May <i>mi-mai</i>
	Temperature (° C)	10	10	10
	Duration (day)/ <i>Durée (jours)</i>	10-18	7-12	5-11
Second time cold storage <i>Deuxième étape du stockage à froid</i>	Cold storing date <i>Date du stockage à froid</i>	early Mar. <i>début mars</i>	mid Apr. <i>mi-avril</i>	late May <i>fin mai</i>
	Developing stage of embryo <i>Stade de développement de l'embryon</i>	C1-C2	C1-C2	C1-C2
	Cold storage temperature (° C) <i>Température de stockage au froid (° C)</i>	2.5	2.5	2.5
Incubation date <i>Date d'incubation</i>		mid or late Apr. <i>mi ou fin avril</i>	early or mid June <i>début ou mi juin</i>	early or mid Jul. <i>début ou mi-juillet</i>

Note : The longest time of cold storage is about 200 days. The first time for cold storage is about 60-120 days, and the longest time for the second cold storage is 100 days, but generally 40-60 days in practical production .
La durée maximum de stockage au froid est d'environ 200 jours. La première étape de stockage au froid dure environ 60-120 jours, et la durée maximum pour le deuxième stockage au froid est d'environ 100 jours, mais dans la pratique elle est généralement de 40 à 60 jours.

Silkworm eggs released from the cold storeroom are kept in the vestibule for 2 hours and then under room temperature for another 1-2 hours prior to common acid treatment. This method is adopted only when there is no other alternative or when the amount of silkworm eggs are small and the grainaged eggs of two or three days must be acid treated at the same time.

Low temperature inhibition after common acid treatment:

Silkworm eggs undergoing low temperature inhibition after acid treatment is a method usually employed in production, especially in tropical and subtropical areas where this is of particular significance. That is to say, the common acid treated silkworm eggs after being subjected to such treatment, the embryo commences to develop. And if this development is inhibited by low temperature, the eggs can be taken out for incubation whenever needed.

The normal procedure for this method is to preserve at 24-25° C after acid treatment for 18-22 hours, that is the time the embryo has reached its C₁, and then the eggs can be stored at 2.5° C. Whenever the eggs are entering or releasing from the cold storeroom, they must pass through a vestibule at 10-13° C for 2 hours. The longest time for cold storage: 30 days for parent eggs and 45 days for F₁ hybrids.

Low temperature inhibition to the silkworm eggs by acid treatment after refrigeration:

If the silkworm eggs that have taken an acid treatment after releasing from cold storeroom have to be inhibited by low temperature, they must be handled properly, or it will lead to the occurrence of white dead eggs. In production, the inhibition of low temperature to the silkworm eggs acid treated after refrigeration can be conducted as follows: preserve the eggs under 24-25° C for 18-22 hours after acid treatment, that is when the eggs developed to C₁, put them into cold storage at 2.5° C. Note the intermediate temperature of 10-13° C should go through for 2 hours when entering into or leaving the cold storeroom. Theoretically, cold inhibition can last 60 days for the F₁ hybrids. In production, it can generally be controlled within 30 days, and at the maximum within 45 days.

Cold storage of hibernated silkworm eggs:

It is a requisite for the hibernating eggs to go through low temperature before they begin to develop and grow. This is a genetic character formed during the systematic development. In order to set an accurate date for incubation and to collect the newly hatched larvae as planned, the eggs should be transferred into a cold storeroom during the latter part of the winter season for preservation. There are two methods for chilling the hibernating silkworm eggs :

Single-step cold storage:

This is very commonly used in production, which is shown in table XIV according to the standards adopted in China.

Two-step cold storage:

Sometimes, silkworm eggs should undergo a rather long period of time for cold storage according to the requirements of cocoon production. Therefore, a two-step cold storing procedure is required. The two-step cold storage, so called, means that silkworm eggs undergo cold storage twice in their two different embryonic development stages. This can prolong the cold storing duration of the silkworm eggs. The actual practice of the two-step cold storage is concluded in table XV.

REFERENCES

- CAI R. A., 1989, Investigation on the relation of cold storage duration and hatching rate of the commercial eggs for acid treatment after refrigeration. *Acta Sericologica Sinica*, 15(1):63-64.
- CEN G. 1986. Relation of voltinism with day light duration of pupa stage. *Guangdon Sericulture*, 1987(4):22-25.
- FENG J.X. 1995, Standard for cold storing of hibernation silkworm eggs. *Sericulture Bulletin* 26(3):46-47.
- FENG J. X. 1995 Standard of acid treatment for artificial hatching and low temperature inhibition for eggs before or after acid treatment. *Sericulture Bulletin*. 26(4):30-31.

- FENG J.-X. 1994 Research on silkworm Multiplication. Literature of Science and Technology Publishing House of Shanghai, Shanghai, P.R. China.
- FENG J. X. 1993 Silkworm Seeding Technology. Agriculture Publishing House. Beijing, P. R. China.
- FENG J.-X. 1993 Practical Technology for Silkworm Seed Production. Zhejiang Science and Technology Publishing House. Zhejiang, P.R. China.
- FENG J.-X., 1986 Experiment on chilling inhibition of blue eggs and newly hatched larvae. A collection of research paper on silkworm egg production (6): 75-82.
- FENG J.-X., 1997 Study on the simplified incubation temperature. Sericulture Bulletin, 8(4):44-46.
- GAO C.-Z. 1988, Experiment on acid treatment for diapaused eggs. Shangxi Sericulture, (4):17.
- HU Y.-K. 1979. Practical experience of relationship between egg preservation and hatching ability. Sericulture Bulletin, 10(2):32-35.
- LI Z.-M., 1985 Experiment on the practical application of two-step cold stored eggs for Summer and Autumn supply. Sichuan Sericulture, 1985(1):39-44.
- LIN F.-H. 1989, Techniques to prolong controlling duration of Acid treated eggs and its practical application. Sericulture Bulletin, 20(2):49-50.
- LING M.-J. 1985 Test on lasting duration of cold storage for hibernated eggs. Hangzhou Sericulture, (3), 14-19.
- LOU X. -Y., 1984. Relationship between high temperature and occurrence of non-diapause eggs. Sericulture Bulletin, 16(4):58-61.
- LOU X.-Y. 1987, Relationship of light quality and silkworm voltinism, Acta Sericologica sinica, 13(3): 188-189.
- RUNJIAO EGG STATION, 1979 Studies on the techniques to produce hibernating eggs from the non-hibernating multivoltine varieties: Jiu Bai Hai and Qiu 303 and its regularity. Acta Sericologica Sinica, 5(2):9-15.
- SICHUANG SERICULTURE AND EGG PRODUCTION COMPANY, 1989. Important Techniques for Silkworm Egg Production. A Practical Manual
- Sericulture Association of Guang Dong Province. 1984, Silkworm Egg Production Techniques in Zhejiang Province. A Practical Manual.
- XIAO X.-D. 1982 Increasing egg quality by proper cocoon protection and seeding techniques. Sichuan Sericulture, (2):31-39.
- XU J.-L. 1983, Voltinism and moltinism control in silkworm egg production. Sericulture Bulletin, 14(3):4-12.
- YANG M.-G. *et al.*, 1977, Improvement on the Method of Mass Pebrine Inspection. Sericulture Bulletin, 17(3):4-9.
- ZHANG D. - H. 1985, Several factors affecting silkworm moth oviposition. Jiangsu Sericulture, (2): 21-24.
- ZHANG Q.F. 1984. Egg preservation techniques of hybrids for spring supply in subtropical regions of South China. Sericulture Bulletin, 15(4):21.
- ZHANG X.-M. 1978, Investigation egg preservation techniques produced in spring and loosed off from the cloth in summer. Sericulture Bulletin, 9(2):30-32.

NORMES TECHNIQUES APPLIQUEES POUR LA PRODUCTION COMMERCIALE D'ŒUFS DE VERS A SOIE BIVOLTINS EN CHINE

CHEN YUYIN

Department of Sericulture and Apiculture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, Chine.

INTRODUCTION

La Chine est le berceau historique de la sériciculture et le plus gros producteur de soie dans le monde à l'heure actuelle. Les variétés de vers à soie utilisées pour la production commerciale en Chine sont les hybrides bivoltins qui non seulement ont des caractères quantitatifs et qualitatifs élevés mais sont aussi sains.

On sait qu'il faut laisser les œufs de variétés bivoltines entrer en diapause pour gérer efficacement la distribution des œufs pour la production et pour augmenter la quantité et la qualité de soie. D'après les résultats des recherches et les expériences pratiques acquises depuis des années en matière de production commerciale d'œufs en Chine, les principes suivants sont très importants pour produire des œufs à diapause à partir de vers à soie bivoltins, en particulier à partir de ceux possédant une origine partiellement polyvoltine.

Il faut en premier lieu, contrôler les conditions nécessaires à l'incubation des œufs de manière stricte.

En deuxième lieu, il convient d'adopter des techniques appropriées et de garantir la protection pendant tout le processus de l'éclosion au grainage.

Enfin en troisième lieu, il faut donner des feuilles matures optimales en fonction des besoins physiques de chaque âge larvaire.

Dans les conditions naturelles, les œufs à diapause n'éclosent pas dans les 10 à 12 jours qui suivent la ponte puisqu'ils entrent en hibernation. Cependant, on peut faire éclore ces œufs quand on le désire, entre 10 jours et une année après la ponte. On peut obtenir des œufs hybrides pour la production de cocons pendant toute l'année en fonction de la demande, en suivant un traitement spécifique ou en adoptant différents programmes d'hibernation.

Voici un résumé détaillé des règles à suivre pendant les différentes étapes de la production commerciale d'œufs et pour le traitement des variétés bivoltines en Chine ; certaines de ces techniques qui sont très pratiques, n'ont jamais été publiées en anglais. Cet article pourrait s'avérer utile comme référence pour la production et la gestion commerciales des œufs.

Conditions requises pour l'incubation :

Le contrôle de l'incubation des œufs de vers à soie parentaux consiste à :

S'assurer que les œufs de variétés différentes éclosent aux dates prévues, les papillons de deux variétés de croisements réciproques doivent donc émerger au même moment de manière à correctement produire des œufs hybrides F1.

Promouvoir une éclosion uniforme et obtenir des vers à soie nouvellement éclos en bonne santé.

Stabiliser le caractère d'hibernation chez les œufs bivoltins, et éviter la présence d'œufs qui n'hibernent pas ou qui éclosent anormalement.

Les règles d'incubation pour les œufs parentaux bivoltins sont différentes en fonction des saisons d'élevage. Les normes d'incubation pour les œufs bivoltins parentaux au printemps sont présentées dans le Tableau I et dans le tableau II pour l'été et l'automne.

Critères d'inhibition des œufs en incubation ou des larves nouvellement écloses :

Si pour une raison particulière, la levée des larves nouvellement écloses doit être retardée, les œufs de ver à soie en incubation ou les larves nouvellement écloses doivent être inhibés dans certaines conditions. La méthode générale consiste à pratiquer une inhibition par le froid à deux stades, c'est à dire quand tous les œufs sont devenus bleus— stade F5 ou stade " d'œufs bleus " et quand les larves sont nouvellement écloses.

Inhibition des " œufs bleus " :

Mettre les " œufs bleus " dans une boîte sombre et stocker à 5° C. Il faut se rappeler que quand les œufs entrent ou sortent de la réserve froide, ils doivent passer par une température intermédiaire de 10 à 13 °C pendant 2 à 3 heures. La durée sans risque de l'inhibition au froid est de 3 à 5 jours.

Inhibition des vers à soie nouvellement éclos :

Les vers à soie nouvellement éclos peuvent être inhibés à une température de 5 à 10 °C et avec une humidité relative de 75 % pendant 2 à 3 jours. Quand les vers à soie nouvellement éclos sont mis ou retirés de la réserve froide, il est nécessaire de passer par la température intermédiaire de 10 à 13 °C pendant 2 à 3 heures.

En général, l'inhibition des " œufs bleus " (F5) est meilleure que celle des vers à soie nouvellement éclos, mais l'une ou l'autre ont un effet sur la croissance et le développement des larves de ver à soie. Plus le temps d'inhibition est long plus la croissance et le développement des larves de vers à soie seront mauvais. Le temps d'inhibition au froid doit donc être le plus court possible.

Normes optimums de qualité pour les feuilles mûres :

La qualité des feuilles de mûrier affecte les caractères économiques de la génération de vers à soie en cours, (aspect des vers à soie, qualité du cocon, qualité de l'œuf, nombre de mues, etc...) mais elle a aussi des effets sur les résultats d'élevage de la génération suivante. Les expériences montrent que les besoins en feuilles de mûrier des vers à soie parents sont les suivants : pour les jeunes larves 23 à 25 % de protéines brutes, 11 à 13 % d'hydrates de carbone solubles ; pour les larves adultes 22 à 23 % de protéines brutes et 14 à 16 % d'hydrates de carbone solubles.

L'âge jeune (du 1^{er} au 3^{ème} âge) est le stade de développement du corps, pendant lequel les larves grandissent rapidement. L'apport incorrect de nutriments provenant de la nourriture a un effet très important sur le succès de la récolte et ne peut pas être rattrapé ultérieurement. Les critères concernant les meilleures feuilles mûres à donner aux jeunes larves sont présentés dans le Tableau III.

Le stade de maturité (du 4^{ème} au 5^{ème} âge) est le stade pendant lequel l'accumulation de la matière nutritionnelle se fait à pas de géant, ce qui assure la croissance et le développement des cellules reproductrices et des glandes séricigènes. Il a été prouvé par des expériences que le nombre d'œufs qui se forment est étroitement corrélé avec les nutriments absorbés par les larves au quatrième et au cinquième âges. Si les larves souffrent de malnutrition, cela entraîne une formation moindre d'œufs, des œufs de plus petite taille et une faible résistance aux conditions climatiques adverses. Pour bien ramasser les feuilles de mûrier il faut d'abord cueillir les feuilles dont la croissance est terminée puis utiliser les feuilles des nouvelles pousses. Pour s'assurer que les feuilles au sommet de nouvelles pousses sont mûres, il faut les détacher 7 jours avant l'utilisation.

Normes d'élevage pour les larves des vers à soie parentaux :

La plupart des souches parentales sont des lignées pures, certaines sont des hybrides de différentes lignées ou des consanguins. Comme les souches parentales sont plutôt faibles de constitution, elles doivent bénéficier des meilleures conditions d'alimentation, d'environnement et de manipulation technique. Le bon développement, la robustesse et la bonne qualité des cocons des vers à soie parentaux permettent d'obtenir une quantité élevée et une bonne qualité d'œufs hybrides F1 pour le commerce et une bonne récolte à la génération suivante. Les règles générales pour l'élevage des larves parentales sont présentées dans le Tableau IV.

Normes standards pour la protection des cocons et pour les étapes de grainage :

Règles de conservation des cocons de grainage :

Il est très important que les cocons de grainage soient conservés dans des conditions adéquates, de manière à obtenir le taux d'éclosion le plus élevé, le nombre d'œufs par papillon le plus élevé et les taux les plus bas d'œufs non fécondés et de mortalité des oeufs.

Au début de la montée, la température idéale est de 25° C, après la formation du cocon 24° C convient mieux. Pour conserver les cocons de grainage, la température idéale est de 24° C, dans une fourchette comprise entre 23 et 25° C. Une humidité relative de 75 à 80 % est idéale, et sans risque entre 70 à 85 %.

Technique de ramassage précoce des cocons :

On ne ramasse pas les cocons de grainage au même moment que pour la production de soie, la technique consiste à ramasser les cocons plus tôt. Il a été prouvé qu'en ramassant les cocons assez tôt on peut diminuer le nombre de larves rétrécies, le taux de mortalité dans les cocons et le taux de papillons anormaux, et augmenter le taux d'éclosion des papillons et le nombre d'œufs pondus par papillon, de manière à améliorer la qualité et la quantité d'œufs. De plus, cela augmente le taux d'utilisation des encabanages.

La méthode consiste à :

Température de 25 à 26° C pendant le filage du cocon, pendant 40 à 60 heures (50 heures comme moyenne) pour les polyvoltins et 48 à 72 heures (60 heures comme moyenne) pour les bivoltins après le pic de la montée. Il faut examiner les cocons avant de les ramasser. Les consignes sont les suivantes : la coque doit être déjà dure, le filage doit juste s'être achevé, mais il ne doit pas y avoir encore de nymphose. Si la nymphose a déjà commencé, il faut arrêter de les ramasser et les ramasser plus tard.

Synchronisation de l'émergence des papillons :

La synchronisation de l'émergence des papillons doit commencer au début de l'incubation des œufs. Cependant, il est possible d'ajuster le développement des chrysalides en contrôlant les différentes températures pour protéger les chrysalides. Pour réguler l'émergence des papillons, une température comprise entre 21 et 27° C est sans risque. On peut ajuster la température : pas moins de 22° C et pas plus de 27° C pour les nymphes femelles et pas moins de 21° C et pas plus de 28° C pour les nymphes mâles. Dans ces limites là, l'émergence des papillons peut se produire un jour avant ou un jour plus tard si la température augmente ou baisse de 2° C. S'il est nécessaire, les nymphes mâles peuvent être stockées au froid entre 7 à 10° C pendant moins de trois jours après la première émergence des papillons. Il ne faut pas stocker les papillons femelles au froid.

Consignes pour le grainage :

Pour l'accouplement la température idéale est de 24° C, il faut éviter une température au-dessus de 27° C ou en dessous de 21° C. L'humidité relative doit être maintenue entre 75 et 80 %. La pièce d'accouplement doit être calme, avec une lumière tamisée et sans brise.

Ponte : Elle doit avoir lieu entre 24 et 25° C et entre 75 à 85 % d'humidité, il faut éviter une température au-dessus de 30° C. La pièce de ponte doit être sombre et aérée.

Normes d'échantillonnage pour l'examen de la maladie de la pébrine :

La pébrine de *Bombyx mori* est provoquée par des spores parasites de *Nosema bombycis*, qui appartient à la famille des Nosematidae. Elle est transmise aux descendants soit par des infections orales ou maternelles. Elle a causé de nombreux dégâts dans l'industrie séricicole. C'est à cause de ces épidémies de pébrine que la sériciculture a presque été décimée en France, en Italie et dans d'autres pays. Les " pontes saines " comme on les appelle, sont des œufs de vers à soie qui ne sont pas atteints par les spores de *Nosema bombycis*. Pour être sûr d'avoir des pontes saines, et éviter les pertes de production, des mesures ont été proposées pour vérifier la qualité de l'élevage des vers à soie et la multiplication des œufs et des consignes appropriées ont été établies pour l'examen des papillons mères.

Echantillonnage :

Les papillons parents, doivent tous être placés dans des boîtes en fonction de leur numéro de série pour l'examen. Pour les hybrides F1, on prend des échantillons de papillons d'après les normes précisées dans le tableau V.

Normes habituelles pour la conservation des œufs de vers à soie :

La conservation des œufs de vers à soie consiste à s'occuper et à protéger les œufs pendant la période allant de la ponte des œufs à hibernation jusqu'à l'éclosion. Chez la variété qui hiberne, non seulement il s'écoule beaucoup de temps entre la ponte et l'éclosion mais en plus elle doit supporter un été chaud et un hiver froid comme chez ceux qui ont été pondus au printemps. Il faut les conserver dans des conditions adaptées, convenant aux besoins et au développement physiologique des œufs pour diminuer le taux de mortalité des œufs, s'assurer d'une éclosion uniforme et pour que les larves de la génération suivante soient robustes et obtenir une bonne récolte pour la production séricicole.

Conservation des œufs pondus au printemps jusqu'au printemps suivant :

Ces œufs de vers à soie sont pondus au printemps et conservés pour fournir la récolte d'élevage au printemps prochain. Après la ponte des œufs, un embryon se forme progressivement et l'embryon entre en état de diapause. Les conditions normales de conservation des œufs pondus au printemps qui hibernent selon les besoins physiologiques aux différents stades de l'embryon et selon les saisons sont présentées dans le Tableau VI.

L'expérience montre que la température la plus sûre en été pour stabiliser la diapause des œufs est de 25° C. Une température élevée au-dessus de 30° C est très néfaste pour les activités physiologiques des œufs et une température basse au dessous de 20° C peut déranger la diapause des œufs, rendre les œufs à hibernation incapables de supporter le stockage au froid et avoir un effet sur l'uniformité du développement embryonnaire.

En ce qui concerne la durée de conservation, la diapause n'est pas inhibée quand les œufs sont conservés à 25° C pendant 90 jours. Plus la durée est longue, plus la diapause se produit à un degré élevé, plus lente est la rupture de la diapause et plus les œufs supporteront longtemps le stockage au froid. Si la durée de la conservation dépasse 90 jours, la durée pendant laquelle les œufs supporteront le stockage au froid sera plus courte et l'éclosion des œufs ne sera pas satisfaisante. Par sûreté pour la production, il est conseillé de conserver les œufs pendant 60 jours à 25° C en été.

Conservation des œufs pondus en automne jusqu'au printemps suivant :

Les œufs de vers à soie pondus en automne pour donner la récolte du printemps suivant s'appellent des œufs à hibernation pondus en automne. Quand on conserve les œufs moins longtemps, il y a moins de nutriments consommés dans les œufs et il est facile de maintenir la qualité des œufs.

Pour stabiliser la diapause et augmenter la tolérance au stockage au froid des œufs à hibernation pondus en automne, il faut avoir recours à une estivation artificielle. Pendant la semaine qui suit la ponte, les œufs sont conservés de la même manière que les œufs de printemps qui hibernent.

Conditions de l'estivation artificielle : température 24 à 25° C, humidité relative 80 %. Durée de l'estivation artificielle : 30 jours pour les œufs pondus au début de l'automne, 15 à 20 jours pour les œufs pondus au milieu et à la fin de l'automne. Après cela, la température doit baisser progressivement de 1° C un jour sur deux jusqu'à ce qu'elle atteigne la température naturelle. Ils sont ensuite traités comme les œufs pondus au printemps.

Pour certaines variétés, qui contiennent du sang polyvoltin et qui donnent facilement des œufs non hibernants, il faut adopter un traitement particulier. Il convient de conserver les œufs à 20° C pendant 5 à 7 jours après la ponte des œufs, mais le point principal consiste à prolonger la durée de l'estivation artificielle. Quand les œufs ont acquis leur couleur inhérente, il faut les conserver à 24-25° C pendant 30 jours, puis à 18-20° C de la mi-novembre à début décembre, après cela la température doit être baissée progressivement, et les œufs doivent être lavés fin décembre.

Normes de désinfection de la surface des œufs :

Pour se débarrasser des dépôts de poils, de l'urine et des micro-organismes pathogènes attachés à la surface des œufs, il est nécessaire de laver et de désinfecter les œufs. Cette procédure peut se faire 2 semaines après la ponte ou juste avant le transfert des œufs dans la réserve froide. Les normes de désinfection de la surface des œufs sont présentées dans le tableau VII.

Normes de traitement à l'acide pour l'éclosion artificielle :

Dans des conditions normales, les œufs de vers à soie qui hibernent sont en état de diapause dans l'année qui suit la ponte. Quelle que soit la température optimum fournie, ils n'éclore pas. Ce n'est qu'après avoir hiberné et être entrés en contact avec une température basse pendant une certaine période, que les œufs de vers à soie peuvent se développer et éclore au printemps suivant. Pour multiplier les récoltes de vers à soie la même année, on utilise un traitement à l'acide chlorhydrique pour rompre la diapause des œufs en hibernation à un certain stade de développement embryonnaire, pour qu'ils éclosent normalement à la date voulue.

Normes pour le traitement courant à l'acide :

L'éclosion artificielle par le traitement à l'acide demande une stimulation immédiate avec de l'acide chlorhydrique juste après la ponte des œufs et avant l'apparition des caractères d'hibernation pour bloquer la tendance à l'hibernation et faire continuer le développement de l'embryon jusqu'à l'éclosion au lieu qu'il entre en diapause.

Il est important de réaliser le traitement à l'acide au bon moment. Le meilleur moment pour le traitement à l'acide se situe entre la fin de la fusion des plis de l'amnios et la formation d'un embryon indépendant. En général, il est idéal de le réaliser 20 heures après la ponte à une température de 24-25° C. Le tableau VIII présente le moment approprié pour le traitement à l'acide, et les normes pratiques de traitement à l'acide pour la production sont présentées dans le Tableau IX.

L'irritation des œufs de ver à soie par l'acide chlorhydrique est due à l'action intégrée de trois facteurs : la concentration de l'acide chlorhydrique (HCl), la température et la durée du traitement. Sur les trois, la concentration en HCl joue le rôle le plus important.

Éclosion artificielle par le traitement à l'acide après le stockage au froid :

Le traitement à l'acide des œufs de vers à soie après un stockage au froid est une méthode d'éclosion artificielle par laquelle les œufs en hibernation passent en premier lieu par une certaine période de stockage au froid, puis sont traités à l'acide. La procédure est la suivante.

Moment optimum pour le stockage au froid :

Du point de vue du développement embryonnaire, il convient de stocker les œufs au froid lorsque l'embryon devient distinct, que le lobe protocéphalique s'est agrandi, que le lobe caudal est en

expansion et que le mésoderme s'est formé. Pour déterminer le moment opportun pour le stockage au froid se reporter au tableau X.

Normes de traitement à l'acide des œufs à diapause après le stockage au froid :

Les normes de traitement à l'acide des œufs à diapause après le passage au froid dépendent des pratiques en usage dans la Province de Canton en Chine. La durée maximum de stockage au froid des œufs à diapause est présentée dans le tableau XII. La période minimum de stockage au froid est de 50 à 60 jours et les conditions de traitement à l'acide sont les mêmes que celles du Tableau XI.

Normes d'application du traitement à l'acide chlorhydrique à température ambiante :

Le traitement à l'acide pour l'éclosion artificielle peut aussi se réaliser à température ambiante, les règles sont décrites dans le tableau XIII.

Normes pour l'inhibition à basse température des œufs avant ou après le traitement à l'acide :

L'inhibition à basse température pour l'éclosion artificielle des œufs de vers à soie est une mesure temporaire pour retarder, à cause de nécessités factuelles, le développement des œufs de vers à soie. C'est une méthode fréquemment employée en production.

Inhibition à basse température avant le traitement courant à l'acide :

Pour certaines raisons, quand le traitement courant à l'acide ne peut pas être réalisé au moment voulu, il est possible d'inhiber le développement des œufs de vers à soie temporairement à faible température puis de réaliser le traitement à l'acide ensuite. Mais il faut suivre les règles suivantes, autrement il échoue.

Les œufs de vers à soie peuvent être conservés après la ponte à 24-25° C pendant 18 à 22 heures, et il est essentiel de les transférer au froid pendant ce laps de temps. Avant d'entrer dans la pièce de stockage principale, les œufs de vers à soie doivent être conservés à une température de 10 à 13° C pendant 2 heures. La température de la pièce de stockage doit être maintenue à 5° C, les œufs ne doivent pas être gardés plus de 5 jours, et plus la durée est courte mieux c'est.

Les œufs de vers à soie retirés de la pièce de stockage sont conservés de 10 à 13° C pendant 2 heures puis à température ambiante pendant 1 à 2 heures avant le traitement courant à l'acide. Cette méthode n'est adoptée que s'il n'y a pas d'autre alternative ou s'il y a une petite quantité d'œufs de vers à soie et que les œufs de grainage de deux ou trois jours doivent être traités à l'acide au même moment.

Inhibition à basse température après le traitement courant à l'acide :

L'inhibition à basse température des œufs de vers à soie après le traitement à l'acide est une méthode couramment employée dans la production, surtout dans les régions tropicales et subtropicales où cela a une importance particulière. En fait, après avoir subi ce traitement l'embryon des œufs de vers à soie traités à l'acide se développe. Et si ce développement est inhibé par une basse température, les œufs peuvent être pris pour l'incubation quand on en a besoin.

La procédure normale avec cette méthode est de les conserver à 24-25° C après le traitement à l'acide pendant 18 à 22 jours, c'est le moment où l'embryon atteint son stade C1, puis les œufs peuvent être stockés à 2,5° C. Quel que soit le moment où les œufs entrent ou sont retirés de la pièce de stockage, ils doivent passer par une température de 10-13° C pendant 2 heures. La durée maximum de stockage au froid est de 30 jours pour les œufs parentaux et de 45 jours pour les hybrides F1.

Inhibition à basse température des œufs de vers à soie traités à l'acide après la réfrigération :

Si les œufs de vers à soie qui ont reçu un traitement à l'acide après avoir été stockés au froid doivent être inhibés à basse température, ils doivent être correctement manipulés, autrement ils

meurent et deviennent blancs. Dans la production, l'inhibition à basse température des œufs de vers à soie traités à l'acide après la réfrigération peut se réaliser comme suit : conservation des œufs à 24-25° C pendant 18 à 22 heures après le traitement à l'acide, c'est à dire quand les œufs se développent au stade C1, puis stockage au froid à 2,5° C. Ils doivent passer 2 heures à la température intermédiaire de 10-13° C quand ils entrent ou quittent la réserve froide. Théoriquement, l'inhibition au froid peut durer 60 jours pour les hybrides F1. Dans la production, cela peut durer 30 jours et au maximum 45 jours.

Stockage au froid des œufs de vers à soie en hibernation :

Il faut que les œufs qui hibernent passent par une température basse avant qu'ils se développent et grandissent. Pour fixer une date précise pour l'incubation et obtenir des larves nouvellement écloses à la date prévue, les œufs doivent être transférés dans une pièce de stockage pendant la dernière partie de l'hiver pour les conserver. Il existe deux méthodes pour refroidir les œufs de vers à soie en hibernation.

Stockage au froid en une étape :

Cette méthode est très couramment utilisée dans la production et elle est présentée dans le tableau XIV d'après les pratiques adoptées en Chine.

Stockage au froid en deux étapes :

Parfois les œufs de vers à soie doivent être stockés au froid pendant longtemps, en fonction des besoins de production en cocons. Dans ce cas, il faut adopter une procédure de stockage au froid en deux étapes. Ce stockage en deux étapes signifie que les œufs de vers à soie passent deux fois par un stockage à froid, à deux étapes différentes du développement embryonnaire. Cela peut prolonger la durée du stockage au froid des œufs de vers à soie. La méthode de stockage au froid en deux étapes est présentée dans le tableau XV.

GENETIC VARIATION, CORRELATION AND PATH ANALYSIS IN MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

K.P. JAYASWAL*, S. MASILAMANI, V. LAKSHMANAN, S.S. SINDAGI & R.K. DATTA*

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Coonoor - 643 101, The Nilgiris, Tamil Nadu, India.

*Genotypic and phenotypic variability and genetic parameters i.e., heritability, co-efficient of variation and genetic advance were estimated for fecundity, larval period, larval weight, cocoon yield by number and weight, single cocoon weight, shell weight, shell ratio and filament length in 32 bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) genotypes of both tropical and temperate origin. The highest co-efficient of variation was observed for fecundity, filament length and cocoon yield by number. A high heritability value along with a high genetic advance was obtained for single shell weight, single cocoon weight and larval weight. Genotypic correlations of shell weight were highly significant in respect of larval weight, single cocoon weight, shell ratio and filament length. Path coefficient analysis revealed that the maximum direct positive effect to shell weight was contributed by the single cocoon weight followed by the shell ratio, fecundity and larval period. The indirect effect of larval weight through single cocoon weight was higher than its direct effect.*

Keywords: *Bombyx mori* L., genetic correlation, heritability, path analysis.

INTRODUCTION

Since domestication of mulberry silkworm, (*Bombyx mori* L.), mankind has shown his interest in breeding silkworm genotypes that produce good quality and quantity of silk. The selection of good quality either by artificial or by natural means had already started in the year 900 A.D. (Rao, 1998).

Improvement of silk productivity depends on the magnitude of genetic variability and the extent to which the associated traits are heritable in silkworm. Selection of a breed and its related traits for improvement requires extent of genetic variability present in the breeding material (Hoy, 1976). There are approximately 2000 different races and breeds of *Bombyx mori* used in silk production (Reddy, 1986). Twenty one characters of this species are recognised as contributing in silk yield quantitatively or qualitatively (Chatterjee *et al.*, 1990). While some of these characters are heritable, others are determined by environmental factors. Environment has a great bearing upon many of the economically important characters which are quantitatively inherited. Thus, it becomes difficult to judge whether the observed variability is heritable or due to environmental effects. Therefore, it is necessary to work out the quantum of heritable and non-heritable components of the total variability of a population. Selection is generally more effective for characters with high heritability than those having low heritability. Further, unfavourable associations between the desired attributes under selection may result in genetic slippage (Dickerson, 1955) and limit the genetic advance. Hence a knowledge of the correlation between such characters is essential while aiming at a rational improvement in silk yield through selection, so that the antagonistic correlations do not nullify the expected progress under

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

selection program. A knowledge of direct and indirect effects of various traits on shell weight is equally important for formulating the effective selection program. Such an information can be obtained through path analysis which quantifies the direct and indirect effects of characters and thus allows relative weightage of importance to be given to such characters which are to be selected and manipulated.

Perusal of the literature reveals that such information on bivoltine genotypes available in India is inadequate. Thus a detailed investigation was planned to generate information on bivoltine silkworm stocks of both tropical and temperate origin.

MATERIALS AND METHODS

Thirty two bivoltine silkworm genotypes (tropical and temperate origin) were selected as test materials for the studies (Table I). Following standard practices (Krishnaswamy, 1978), the rearing of larvae was done using mulberry leaves during two seasons: Oct-Nov. 1995 (Autumn) and May-June 1996 (summer). Five layings were brushed *en masse* for each stock and larvae were divided into three replications of 450 each following the 3rd moult.

Observations were made on the characters which are contributing to silk yield quantitatively *i.e.*, fecundity, larval duration (in hours), weight of 10 matured larvae, cocoon yield by number (number/10,000 larvae), cocoon yield by weight, (weight (kg)/ 10,000 larvae), single cocoon weight, single shell weight, shell ratio and silk filament length.

The components of variance and co-efficient of variation were calculated. As variance estimates are dependent on the scale of measurement used, it is not possible to have an idea of the relative magnitude of variance of different characters. For such a comparison, co-efficient of genetic variation (GCV) was computed by dividing the square root of the genotypic variance (σ^2_g) by the population mean and multiplying it by 100. (Burton, 1952).

$$GCV = \frac{\sigma^2_g}{\text{population mean}} \times 100$$

The data were further utilised to determine heritability in the broad sense (Lush, 1949) and were calculated by the following formula:

$$H = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_{ph}} \text{ where } H = \text{heritability}$$

σ^2_g = genotypic variance, σ^2_{ph} = phenotypic variance

$$\sigma^2_{ph} = \sigma^2_g + \sigma^2_c/\text{No. of replication}$$

$$\sigma^2_g = \sigma^2_{ph} - \sigma^2_c/\text{No. of replication}$$

$$\sigma^2_c = \text{error variance}$$

Genetic advance was worked out as per Allard (1960):

$$G.A = (k) (\sigma_A) \times H$$

Where, k = selection intensity

$$\sigma_A = \sigma^2_{ph}$$

$$H = \text{Heritability}$$

Phenotypic and genetic correlations as proposed by Robinson *et al.*, (1951) were calculated and tested for the significance. Path of direct and indirect effects of different characters on single shell weight was also determined as per Dewey & Lu (1959).

RESULTS

Genetic variation:

The variation displayed by the nine characters in this study is presented in Table II. Genotypic differences in all the characters were significant at 1% level of probability. The highest co-efficient of variation was observed for fecundity followed by filament length, cocoon yield by number and weight, and the least for larval period.

The phenotypic and genotypic co-efficient of variation (PCV and GCV), estimates of the components of variance, broad sense heritability and genetic advances are shown in Table III. Results indicate that the PCV was generally higher than the GCV for all the characters but in many cases, the two values differed slightly. The highest values were noticed for fecundity followed by cocoon yield by weight, filament length and single shell weight. The heritability estimates ranged from 53.04 to 81.79% for cocoon yield by number and single cocoon weight. High heritability estimates (> 70) were shown for shell weight, larval weight, shell ratio and cocoon yield by weight and the moderate estimates (< 70) for larval period and fecundity.

The expected genetic advance (expressed as per cent of mean) varied from 5.70 to 20.76 for larval period and cocoon weight. Relatively low values were noticed for the larval period and cocoon yield by number. Comparatively high values were observed for single shell weight, fecundity, cocoon yield by weight, larval weight and single cocoon weight.

Correlation between characters:

The phenotypic and genetic correlations among the various characters are presented in Table IV. In most cases, there was a close agreement between phenotypic and genetic correlations, while in others, the differences were highly significant indicating the importance of the environmental effects in estimating these parameters.

Among the eight characters, only six characters were positively correlated with single shell weight. Of these six characters, four characters i.e., larval weight, cocoon weight, shell ratio and filament length had highly positive significant correlation with single shell weight. Fecundity had a highly significant positive correlation with the cocoon yield by number, larval weight, single cocoon weight and negative correlation with larval duration and shell ratio. Larval period had a highly significant positive correlation with shell ratio, and negative association with the rest of the characters. Larval weight had a highly significant association with single cocoon weight, cocoon yield by weight and filament length. Cocoon yield by number had a significant positive correlation with cocoon yield by weight and had a highly significant negative correlation with shell ratio. The cocoon yield by weight had a highly significant positive correlation with the single cocoon weight. The filament length had a highly significant positive correlation with single cocoon weight and shell ratio.

Path co-efficient analysis:

The genetic correlations were analysed by the path co-efficient technique. This technique involves a method of partitioning the correlation co-efficient into direct effects and indirect effects through alternate characters or pathways. Shell weight being the complex outcome of different characters was considered the resultant variable and fecundity, larval period, larval weight, cocoon yield by number and weight, single cocoon weight, shell ratio and filament length were caused variables (Figure 1).

An example will illustrate the path co-efficient method as an aid in analysing correlation co-efficients. The correlation co-efficient of the larval weight with the single shell weight, $r = 0.570$ consists of 8 components, the relative contribution of which can be shown as follows:

Table I. List and salient characteristics of thirtytwo silkworm strains used in this study.

Tableau I. Liste et caractéristiques principales de trente deux souches de vers à soie utilisées dans cette étude.

Sl. No.	Strain	Geo. origin	Larval marking	Cocoon colour / cocoon shape/ shell grains/ floss amount
No. de série	Souche	Origine géographique	Marquage larvaire	Couleur du cocon / forme du cocon / grains de la coque / quantité de bourre
1.	JZH (PO)	Brazil / Brésil	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
2.	JZH (MC)	Brazil / Brésil	Marked / marqué	White / constricted like dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
3.	C108	China / Chine	Plain / Uni	White / oval / ordinary / less / Blanc / ovale / ordinaires / inférieure
4.	C120	China / Chine	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
5.	Dong 306	China / Chine	Plain / Uni	White / short oval / medium / more / Blanc / petit et ovale / moyens / supérieure
6.	NN6D	China / Chine	Plain / Uni	White / oval, short oval / ordinary / less / Blanc / oval, petit et ovale / ordinaires / inférieure
7.	HUA1×HUA2	China / Chine	Plain / Uni	White / elongated oval / medium / more / Blanc / ovale allongé / moyens / supérieure
8.	European	France	Plain / Uni	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
9.	JA1	India / Inde	Marked / Marqué	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
10.	JB2	India / Inde	Marked / Marqué	White / dumbbell / medium / fine / less / Blanc / cintré / moyens / fins / inférieure
11.	SH2	India / Inde	Plain / Uni	White / oval / fine / less / Blanc / ovale / fins / inférieure
12.	NB1	India / Inde	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
13.	KA	India / Inde	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
14.	NB4D2	India / Inde	Plain / Uni	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
15.	NB7	India / Inde	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
16.	NB18	India / Inde	Plain / Uni	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure

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

Sl. No.	Strain	Geographical origin	Larval marking	Cocoon colour / cocoon shape/ shell grains/ floss amount
No.	Souche	Origine géo.	Marquage larvaire	Couleur du cocon / forme du cocon/ grains de la coque / quantité de bourre
17	J1 (M)	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / elongated constricted / ordinary / less / Blanc / allongé et étroit / ordinaires / inférieure
18	J2 (P)	Japan / Japon	Plain / Uni	White / elongated oval / medium / less / Blanc / allongé et ovale / moyens / inférieure
19	J2 (M)	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / deeply constricted / medium / less / Blanc / très étroit / moyens / inférieure
20.	JC2 (P)	Japan / Japon	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
21	CJ3 (P)	Japan / Japon	Plain / Uni	White / oval / medium / less / Blanc / ovale / moyens / inférieure
22	M2	Japan / Japon	Plain / Uni	White / slightly constricted / medium / less / Blanc / légèrement étroit / moyens / inférieure
23	SPC1	Japan / Japon	Plain / Uni	White / oval, short oval / medium / less / Blanc / oval, court oval / moyens / inférieure
24	SPJ1	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / slender constricted / medium / less / Blanc / élancé et étroit / moyens / inférieur
25	SPJ2	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / slender constricted / medium / less / Blanc / élancé et étroit / moyens / inférieure
26	NA	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / constricted like dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
27	J122	Japan / Japon	Plain / Uni	White / oval, mildly constricted / medium / less / Blanc / oval, légèrement étroit / moyens / inférieur
28	14 M	Japan / Japon	Marked / Marqué	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
29	36 (PC)	Japan / Japon	Plain / Uni	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
30	SN1*	Japan / Japon	Plain / marked Uni / marqué	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieur
31	NJ1*	Japan / Japon	Plain / marked Uni / marqué	White / dumbbell / medium / less / Blanc / cintré / moyens / inférieure
32	4792	Vietnam	Plain / Uni	White / elongated oval / ordinary / more / Blanc / ovale allongé / ordinaires / supérieure

* Sex-limited strains. In a given strain, plain larvae are males and marked ones are females. / * Souches limitées au sexe Pour une souche donnée, les larves unies sont mâles et les larves marquées sont femelles.

Larval weight Vs. Single shell weight		$r = 0.570$
Direct effect		$P \times 3 Y = 0.157$
Indirect effect via fecundity	r13	$P \times 1 Y = 0.085$
Indirect effect via larval period	r23	$P \times 2 Y = -0.045$
Indirect effect via ERR by number	r34	$P \times 4 Y = 0.005$
Indirect effect via ERR by weight	r35	$P \times 5 Y = 0.021$
Indirect effect via single cocoon weight	r36	$P \times 6 Y = 0.520$
Indirect effect via shell percentage	r37	$P \times 7 Y = -0.125$
Indirect effect via filament length	r38	$P \times 8 Y = -0.048$
		Total = 0.570

Table II. Phenotypic variation in nine characters of thirty two bivoltine silkworm genotypes.

Tableau II. Variation phénotypique pour neuf caractères de trente deux génotypes de vers à soie bivoltins.

Sl. No.	Characters	Range	Mean	S.E. (±)	C.V. (%)	F values for genotypes
No. de série	Caractères	Fourchette	Moyenne	Ecart type		Valeurs F pour les génotypes
1.	Fecundity (by no.) <i>Fécondité (en nbre)</i>	241 - 698	509.4	30.88	10.50	5.57**
2.	Larval period (hrs) <i>Durée larvaire (heures)</i>	602 - 702	645.1	9.47	2.54	6.49**
3.	Larval weight (g) <i>Poids larvaire (g)</i>	34.0 - 53.1	41.32	1.26	5.30	10.41**
4.	Cocoon yield (by no.) <i>Rendement en cocons (en nbre)</i>	5753 - 9920	9205	319.4	6.01	4.30**
5.	Cocoon yield (by wt.) <i>Rendement en cocons (en poids)</i>	9.400 - 19.480	15.770	0.60	6.58	9.56**
6.	Single cocoon weight (g) <i>Poids d'un cocon (g)</i>	1.419 - 2.127	1.727	0.043	4.29	13.02**
7.	Single shell weight (cg) <i>Poids d'une coque (cg)</i>	21.98 - 43.2	32.95	0.100	5.25	14.47**
8.	Shell ratio (%) <i>Richesse soyeuse (%)</i>	16.08 - 23.4	19.2	0.406	3.66	10.01**
9.	Filament length (m) <i>Longueur du filament (m)</i>	820-1350	1054	52.1	8.56	4.58**

** F values significant at 1% level of probability / Valeurs F à un niveau de probabilité de 1 %.

Table III. Phenotypic and genetic co-efficient of variation, components of variance, heritability (H) and genetic advance (GA) of nine characters of thirtytwo bivoltine silkworm genotypes.

Tableau III. Coefficient de variation phénotypique (PVC) et génétique (GVC), composants de variance, hérabilité (H) et avance génétique (GA) de neuf caractères pour trente deux génotypes de vers à soie bivoltins.

Sl No.	Characters	PCV (%)	GCV (%)	Estimates of components of variance			H % (broad sense)	GA as % of mean
				σ^2_{ph}	σ^2_g	σ^2_e		
No. de Caractères série				Estimations des composants de la variance			H % (au sens large)	GA comme le % de la moyenne
				σ^2_{ph}	σ^2_g	σ^2_e		
1	Fecundity <i>Fécondité</i>	16.68	12.95	7215.7	4354.9	2860.8	60.35	20.73
2.	Larval period <i>Durée larvaire</i>	4.28	3.44	761.44	492.34	269.1	64.66	5.70
3.	Larval weight <i>Poids larvaire</i>	10.77	9.38	19.82	15.03	4.79	75.83	16.82
4.	Cocoon yield (No.) <i>Rendement en cocons (Nbre)</i>	8.77	6.39	651500	345546	305954	53.04	9.58
5.	Cocoon yield (wt.) <i>Rendement en cocons (poids)</i>	12.93	11.13	4.157	3.079	1.078	74.07	19.72
6	Single cocoon wt. <i>Poids du cocon</i>	9.51	8.59	0.027	0.022	0.005	81.48	15.97
7.	Single shell wt. <i>Poids de la coque</i>	12.31	11.14	16.458	13.461	2.997	81.79	20.76
8.	Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	7.32	6.34	1.978	1.484	0.494	75.03	11.30
9.	Filament length <i>Longueur du filament</i>	12.68	9.36	17875	9729.1	8146.4	54.43	14.22

Table IV. Phenotypic (rp) and genotypic (rg) correlation co-efficients among eight characters in silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau IV. Coefficients de corrélation phénotypique (rp) et génotypique (rg) pour huit caractères du ver à soie, *Bombyx mori* L.

Sl. No.	Correlated characters		Correlation coefficients							
			Shell weight	Fecundity	Larval period	Larval weight	Cocoon yield (by no.)	Cocoon yield (by wt.)	Single cocoon wt.	Shell ratio
No. de série	Caractères corrélés		Coefficients de corrélation							
			Poids de la coque	Fécondité	Durée larvaire	Poids larvaire	Rendement en cocons (en nbre)	Rendement en cocons (en poids)	Poids d'un cocon	Richesse soyeuse
1.	Fecundity <i>Fécondité</i>	rp	-0.032							
		rg	-0.082							
2.	Larval duration <i>Durée larvaire</i>	rp	0.145	-0.315						
		rg	0.200	-0.609**						
3.	Larval weight <i>Poids larvaire</i>	rp	0.460	0.219	-0.087					
		rg	0.570**	0.340*	-0.153					
4.	Cocoon yield (by no.) <i>Rendement en cocons (en nombre)</i>	rp	-0.047	0.264	-0.147	-0.039				
		rg	-0.202	0.461**	-0.306*	-0.080				
5.	Cocoon yield (by wt.) <i>Rendement en cocons (en poids)</i>	rp	0.323	0.165	-0.083	0.428	0.721			
		rg	0.345*	0.213	-0.194	0.515**	0.806**			
6.	Single cocoon wt. <i>Poids d'un cocon</i>	rp	0.772	0.229	-0.150	0.878	0.062	0.612		
		rg	0.796**	0.267*	-0.246*	0.701**	0.086	0.708**		
7.	Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	rp	0.589	-0.369	0.543	-0.105	-0.050	-0.226	-0.015	
		rg	0.575**	-0.557**	0.369**	-0.182	-0.388**	-0.314*	-0.017	
8.	Filament length <i>Longueur du filament</i>	rp	0.612	0.021	-0.066	0.311	-0.010	0.264	0.473	0.345
		rg	0.702**	0.059	-0.038	0.436**	0.108**	0.325*	0.570**	0.434**

** , * Significant at 1% and 5% levels, respectively. / Significatif au seuil de 1 % et 5 % respectivement.

Table V. Direct and indirect genetic effects via various paths of eight quantitative characters on the shell weight in silkworm, *Bombyx mori* L.

Tableau V. Effets génétiques directs et indirects par différentes voies de huit caractères quantitatifs sur le poids de la coque chez le ver à soie, *Bombyx mori* L.

Sl. No.	Characters	Indirect effect via								
		Fecundity	Larval period	Larval weight	Cocoon yield (by no.)	Cocoon yield (by wt.)	Single cocoon weight	Shell ratio	Filament length	Genetic correlation with single shell weight
No. de série	Caractères	Effet indirect via								
		Fécondité	Période larvaire	Poids larvaire	Rendement en cocons (en nbre)	Rendement en cocons (en poids)	Poids d'un cocoon	Richesse soyeuse	Longueur du filament	Corrélation génétique avec le poids d'une coque
1.	Fecundity / Fécondité	(0.252)	0.178	0.053	-0.027	0.009	0.198	-0.383	-0.006	-0.082
2.	Larval period / Durée larvaire	-0.153	(0.292)	-0.024	0.018	-0.008	-0.183	0.254	0.004	0.200
3.	Larval weight / Poids larvaire	0.085	-0.045	(0.157)	0.005	0.021	0.520	-0.125	-0.048	0.570
4.	Cocoon yield (by no.) Rendement en cocons (en nbre)	0.116	-0.089	-0.013	(-0.058)	0.033	0.064	-0.267	0.012	-0.202
5.	Cocoon yield (by wt.) Rendement en cocons (en poids)	0.054	-0.057	0.081	-0.047	(0.041)	0.525	-0.216	-0.036	0.345
6.	Single cocoon weight / Poids d'un cocoon	0.067	-0.072	0.110	-0.005	0.029	(0.742)	-0.012	-0.063	0.796
7.	Shell ratio (%) / Richesse soyeuse (%)	-0.140	0.108	-0.028	0.022	-0.013	-0.013	(0.687)	-0.048	0.575
8.	Filament length / Longueur du filament	0.015	-0.011	0.068	0.006	0.013	0.423	0.298	(-0.110)	0.702

Figures in parenthesis denote the direct effects / Les chiffres entre parenthèses donnent les effets directs. Residual effect / Effet résiduel = -0.061

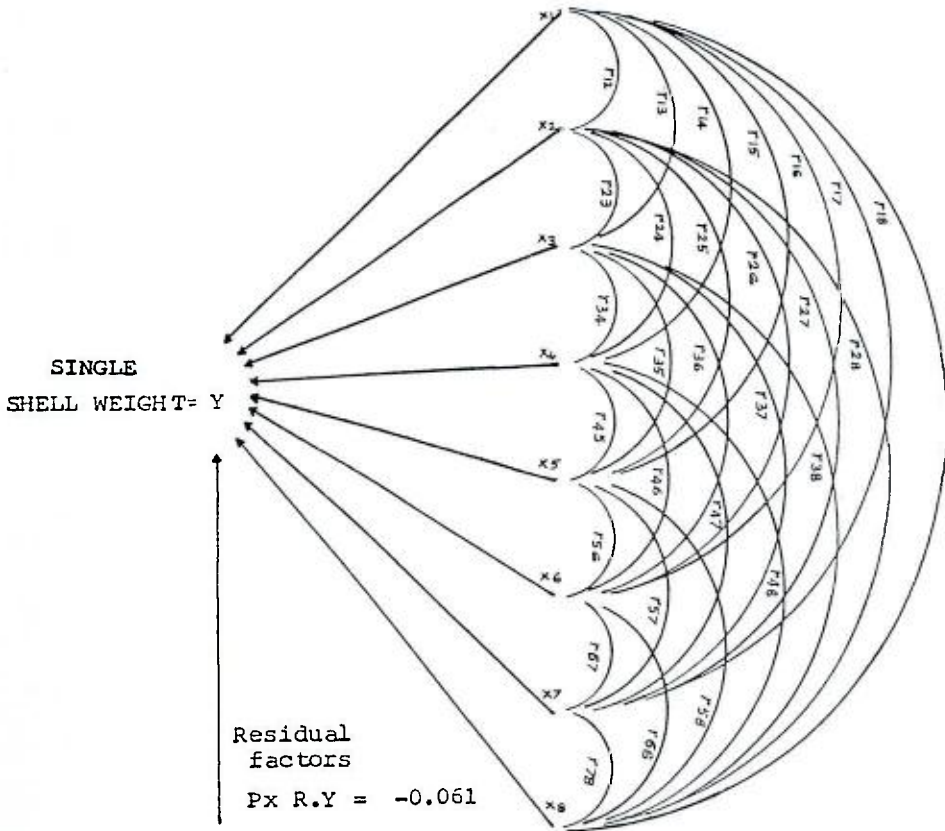


Fig. 1. A diagramme of path coefficients of factors influencing the single shell weight in silkworm (*Bombyx mori* L.).

Fig. 1. Diagramme des coefficients Path des facteurs influençant le poids de la coque chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.)

- X1 = Fecundity / Fécondité.
- X2 = Larval duration / Durée larvaire.
- X3 = Larval weight / Poids larvaire.
- X4 = Cocoon yield (by number) / Rendement en cocons (en nombre).
- X5 = Cocoon yield (by weight) / Rendement en cocons (en poids).
- X6 = Single cocoon weight / Poids du cocoon.
- X7 = Shell ratio / Richesse soyeuse.
- X8 = Filament length / Longueur du filament.

With the correlation coefficient partitioned into its components, it is realised what contributes to the relationship. The indirect effect through single cocoon weight has more influence on the single shell weight than its direct effect. The indirect effect of larval weight through larval period, shell ratio and filament length show a negative influence on the single shell weight. The direct and indirect effects of eight associated characters are shown in Table V. Out of these eight characters, six characters i.e., fecundity, larval period, larval weight, cocoon yield by weight, single cocoon weight, shell ratio had positive direct effects on single shell weight. The indirect effect of larval weight through single cocoon weight was higher than its direct effect. Cocoon yield by weight, exhibited the least direct influence on single shell weight, however, it had an indirect effect through single cocoon weight. Filament length is influenced indirectly through single shell weight, single cocoon weight and shell ratio. The residual variable $XR = -0.061$ is assumed to be independent which permits precise explanation about the pattern of interaction of other possible components of single shell weight.

DISCUSSION

The variation exhibited by the thirty two silkworm genotypes in nine quantitative characters indicates that selection for several of these characters may be effective. However, selection efficiency is related to the magnitude of heritability and genetic advance (Johnson *et al.*, 1959). In the present study, high heritability was associated with high genetic gain in the case of single shell weight, single cocoon weight and larval weight indicating that additive gene effects are important in determining these characters (Panse, 1957). Most probably the population could be subjected to mass selection or any other suitably modified selection procedure to exploit this additive gene effects. The present observations are in agreement with those of Petkov (1981) and Rao *et al.*, (1989) in *Bombyx mori* L. and Sen *et al.*, (1976) in *Antheraea mylitta* D. Thus, the selection of superior genotypes based on single shell weight, single cocoon weight and larval weight *per se* would be effective.

The high heritability with low genetic gain in other characters was possibly due to intra and inter-allelic interactions which suggest that recurrent selection may be useful to improve these traits (Sen *et al.*, 1976). The cocoon yield by number, filament length, fecundity and larval period showed moderate heritability (<70 %) and cocoon yield by number (53.04%) the lowest. The result indicates that cocoon yield being a complex character in silkworm is perhaps subjected to a high degree of non-heritable variation, resulting in low heritability (Gamo and Hirabayashi, 1983; Bhargava *et al.*, 1993). It appears that except cocoon yield by number and filament length, all the characters studied can be improved on the basis of phenotypic performance.

For a more efficient approach towards improvement of single shell weight, selection should be made on its components. The component traits which are strongly correlated with single shell weight as the basis of selection would minimise the effect of epistasis and thus the linkage will not influence the progeny mean for any trait. In this study, the shell weight had a positive and highly significant positive correlation with the larval weight, single cocoon weight, shell ratio and filament length which confirms the earlier investigations made by Chatterjee *et al.*, (1993) and Nagaraju (1998). Correlation co-efficients generally described between the characters are inadequate in interpreting the cause and effect relationship. The correlation co-efficients between various characters can be partitioned into direct and indirect relationship by the path analysis technique (Dewey and Lu, 1959). The results obtained in path -coefficient analysis reveal that single cocoon weight, shell ratio, larval period and fecundity had a maximum positive direct effect on single shell weight. The indirect effect of larval weight through single cocoon weight is higher than its direct effect. It is evident that single cocoon weight and larval weight are the important component characters of single shell weight in the silkworm as they are positively correlated with maximum characters studied. Similar results have also been reported by Yan (1983) and Yan (1989) in the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. and Sen *et al.*, (1976) in tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D.

Based on the above results, it is inferred that the emphasis on selection of single cocoon weight, shell ratio, larval weight, fecundity and larval duration should be given together in order to improve the silk yield in *Bombyx mori* L.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Shri S. Lakshmanan, Statistician, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore for his help in statistical analysis.

REFERENCES

- ALLARD (1960) Principles of plant breeding. John Wiley and Sons Inc., New York.
- BHARGAVA S.K., THIAGARAJAN V., RAMESH BABU M., NAGARAJ B. (1993) Heritability of quantitative characters in silkworm (*Bombyx mori* L.). Indian J. Agric. Sci., 63, 358-362.
- BURTON G. W. (1952) Quantitative inheritance in grasses. Proc. 6th Int. Grassld. Cong, 1, 277-283.
- CHATTERJEE S. N., NAGARAJ C.S., GIRIDHAR K. (1990) An approach to silkworm breeding. In Workshop on biometrical genetics proceedings (Ed. by R.K. Datta), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 11-16 pp.
- CHATTERJEE S.N., RAO P.R.M., JAYESWAL K.P., SINGH R., DATTA R. K. (1993) Genetic variability in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., breeds with low silk yield. Indian J. Seric., 32, 69-86.
- DEWEY D.R., LU K.H. (1959) A correlation and path co-efficient analysis of components of crested wheat grass seed production. Agron. J., 47, 314-318.
- DICKERSON G.E. (1955) Genetic slippage in response to selection for multiple objectives. Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology 20, 213-224.
- GAMO T., HIRABAYASHI T. (1993) Genetic analysis of growth rate, pupation rate and some quantitative characters by diallel cross in the silkworm, *Bombyx mori* L. Japanese J. Breed., 33, 178-190.
- HOY M. A. (1976) Genetic improvement of insects: Facts and Fantasy. Environ. Entomol., 5, 833-839.
- JOHNSON H. W., ROBINSON H. F., COMSTOCK R. E. (1959) Estimation of genetic and environmental variability in Soybeans. Agron. J., 47, 314-318.
- KRISHNASWAMY S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bulletin 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 1-10 pp.
- LUSH J.L. (1949) Heritability of quantitative characters in farm animals. Hereditas (Suppl.) 35, 356-357.
- NAGARAJU J. (1998) Silk yield attributes - Correlations and complexities . In Silkworm Breeding (Ed. by G. Sreerama Reddy). Proceedings of the National Workshop held on March 18-19, 1994. Published by Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New-Delhi, 168-185 pp.
- PANSE V.G. (1957) Genetics of quantitative characters in plant breeding. Ind. J. Genet., 17, 318-328.
- PETKOV N. (1981) Variability and correlation between some characteristic features of silkworm, *B. mori* Genet. Sel., 12, 286-291.
- RAO P.R.M., IYENGAR M.N.S., BASAVARAJ H.K., NAGARAJ C.S. (1989) Path co-efficient analysis of four popular bivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* (L.) Geobios New Reports, 8(2) 189-191.
- RAO S.K. (1998) History of silkworm races. In: Silkworm Breeding Proceedings of the National Workshop held on March 18-19, 1994 (Ed by G. Sreerama Reddy). Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, 3-17pp.
- REDDY G.S. (1986) Genetics and Breeding of silkworm, *Bombyx mori* L. In Lectures on sericulture (Ed. by Boraiah G.), Suramya Publishers, Bangalore, India, 70-80 pp.
- ROBINSON H.J., COMSTOCK R.E., HARVEY P.H. (1951) Genotypic and phenotypic correlation in Corn and their implications in selection. Agron. J., 43, 282-287.

- SEN S. K., SENGUPTA A.K., DAS M.G., JOLLY M.S. (1976) Studies on genetic variability, correlations, path coefficient analysis and discriminant functions in *A. mylitta* D. Indian J. Seric., 15, 9-14.
- YAN L. L. (1983) Estimates of heritability and genetic correlation of pupal weight, cocoon shell weight and egg number and path analysis in silkworm, *Bombyx mori*. Sci. Seric., 9, 149-155.
- YAN X. (1989) Path analysis of some quantitative characters in silkworm, *Bombyx mori*. Canye Kexue 14, 21-24.

VARIATION GENETIQUE, CORRELATION ET ANALYSE DE REGRESSION MULTIPLE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

K. P. JAYASWAL*, S. MASILAMIANI, V. LAKSHMANAN, S. S. SINDAGI & R. K. DATTA*

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Coonoor – 643 101, The Nilgiris, Tamil Nadu, Inde.

*Nous avons estimé la variabilité génotypique et phénotypique et les paramètres génétiques, c'est à dire, l'héritabilité, le coefficient de variation et l'avance génétique pour la fécondité, la période larvaire, le poids larvaire, le rendement en cocons en nombre et en poids, le poids d'un cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse et la longueur du filament chez 32 génotypes de vers à soie bivoltins (*Bombyx mori* L.) d'origines tropicale et tempérée. Le coefficient de variation le plus élevé est observé pour la fécondité, la longueur du filament et le rendement en cocons en nombre. On obtient une valeur d'héritabilité élevée et une avance génétique élevée pour le poids de la coque, le poids d'un cocon et le poids larvaire. Les corrélations génotypiques du poids de la coque sont très significatives par rapport au poids larvaire, au poids du cocon, à la richesse soyeuse et à la longueur du filament. L'analyse du coefficient de régression multiple (coefficient Path) révèle que l'effet direct positif maximum par rapport au poids de la coque dépend du poids du cocon, suivi de la richesse soyeuse, de la fécondité et de la durée larvaire. L'effet indirect du poids larvaire sur le poids d'un cocon est plus élevé que son effet direct.*

INTRODUCTION

Depuis la domestication du ver à soie du mûrier (*Bombyx mori* L.), l'humanité a montré son intérêt pour l'élevage de génotypes de ver à soie produisant une soie de qualité et de quantité élevées. La sélection de soie de bonne qualité par des moyens artificiels ou naturels a commencé dès l'an 900 avant J.C. (Rao, 1998).

L'amélioration de la productivité dépend de l'ampleur de la variabilité génétique et du degré auquel les traits associés sont hérités. La sélection d'une lignée et de ses traits associés en vue d'amélioration nécessite l'accroissement de la variabilité génétique présente dans le matériel de lignage (Hoy, 1976). Il existe environ 2000 races et lignées différentes de *Bombyx mori* utilisées pour la production de soie (Reddy, 1986). On reconnaît que vingt et un caractères de ces espèces contribuent quantitativement et qualitativement au rendement en soie (Chatterjee et coll., 1990). Alors que certains de ces caractères sont héréditaires, d'autres sont déterminés par les facteurs environnementaux. L'environnement a une grande influence sur de nombreux caractères économiquement importants qui sont hérités quantitativement. Il devient donc difficile de juger si la variabilité observée est héréditaire ou si elle est due aux effets de l'environnement. Il est donc nécessaire d'évaluer la part des composants héréditaires et non héréditaires sur la variabilité totale d'une population. La sélection est généralement plus efficace pour les caractères ayant une héritabilité élevée. De plus, des associations défavorables

* Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore – 570 008, Karnataka, Inde.

entre les attributs désirés pour la sélection peuvent entraîner des dérapages génétiques (Dickerson, 1955) et limiter l'avance génétique. Il est donc essentiel de connaître la corrélation entre de tels caractères tout en visant une amélioration rationnelle du rendement en soie, de sorte que les corrélations antagonistes ne réduisent pas à zéro les progrès attendus du programme de sélection. Il est évidemment important de connaître les effets directs et indirects de traits variés sur le poids de la coque pour mettre au point un programme de sélection efficace. On peut obtenir une telle information par l'analyse de Path (régression multiple) qui quantifie les effets directs et indirects des caractères et permet ainsi de connaître le poids relatif de tels caractères, qui doivent être sélectionnés et manipulés.

Les informations disponibles à ce sujet pour les génotypes bivoltins présents en Inde ne sont pas adaptées. Nous avons donc programmé une étude détaillée pour obtenir des informations sur les souches de vers à soie bivoltins d'origines tropicale et tempérée.

MATERIELS ET METHODES

Trente deux génotypes de vers à soie bivoltins (d'origines tropicale et tempérée) ont été sélectionnés comme matériaux test pour l'étude (Tableau I). Les larves ont été élevées en utilisant les pratiques habituelles (Krishnaswamy, 1978), en leur donnant des feuilles de mûrier pendant deux saisons : oct – nov 1995 (automne) et mai – juin 1996 (été). Cinq pontes ont été levées en masse pour chaque souche et les larves ont été réparties en trois répétitions de 450, après la troisième mue.

Des observations ont été faites sur les caractères qui contribuent au rendement en soie, c'est à dire, la fécondité, la durée larvaire (en heures), le poids des larves matures, le rendement de cocons en nombre (nombre / 10 000 larves), le rendement de cocons en poids (poids (kg) / 10 000 larves), le poids d'un cocon, le poids d'une coque, la richesse soyeuse et la longueur du filament.

Les composants de la variance et le coefficient de variation ont été calculés. Comme les estimations de la variation dépendent de l'échelle de mesure utilisée, il n'est pas possible d'avoir une idée de l'ampleur relative de la variance des différents caractères. Pour une telle comparaison, le coefficient de variation génétique (GCV) a été calculé en divisant la racine carrée de la variance génotypique (σ^2_g) par la moyenne de la population et en le multipliant par 100 (Burton, 1952).

$$GCV = \frac{\sigma^2_g}{\text{moyenne de la population}} \times 100$$

Les données ont été ensuite utilisées pour déterminer l'héritabilité au sens large (Lush, 1949) et ont été calculées d'après la formule suivante :

$$H = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_{ph}} \text{ où } H = \text{l'héritabilité}$$

σ^2_g = variance génotypique, σ^2_{ph} = variance phénotypique

$\sigma^2_{ph} = \sigma^2_g + \sigma^2_e / \text{Nbre de répétitions}$

$\sigma^2_g = \sigma^2_{ph} - \sigma^2_e / \text{Nbre de répétition}$

σ^2_e = variance de l'écart

L'avance génétique (G. A) a été calculée d'après Allard (1960) :

$$G.A = (k) (\sigma A) \times H$$

Où, k = intensité de la sélection

$$\sigma_A = \sigma^2_{ph}$$

H = Héritabilité

Les corrélations phénotypiques et les corrélations génétiques telles que proposées par Robinson et coll. (1951) ont été calculées et leur signification a été testée. Les coefficients de régression multiple (Path) des effets directs et indirects sur différents caractères par rapport au poids de la coque ont également été déterminés d'après Dewey et Lu (1959).

RESULTATS

Variation génétique :

La variation que montrent les neuf caractères est présentée dans le Tableau II. Les différences génotypiques pour tous les caractères sont significatives à un seuil de probabilité de 1 %. Le coefficient de variation le plus élevé est observé pour la fécondité, suivie par la longueur du filament, le rendement en cocons en nombre et en poids et le moins élevé pour la durée larvaire.

Le coefficient de variation phénotypique et génotypique (PCV et GCV), les estimations des composants de la variance, l'héritabilité au sens large et les avances génétiques sont présentés dans le Tableau III. Les résultats indiquent que le PCV est en général plus élevé que le GCV pour tous les caractères mais dans de nombreux cas, les deux valeurs diffèrent peu. On observe les valeurs les plus élevées pour la fécondité suivie par le rendement de cocons en poids, la longueur du filament et le poids d'une coque. Les estimations de l'héritabilité sont comprises entre 53,04 et 81,79 % pour le rendement en cocons en nombre et le poids d'un cocon. Des estimations élevées de l'héritabilité (> 70) sont obtenues pour le poids de la coque, le poids larvaire, la richesse soyeuse et le rendement en cocon en poids et des estimations modérées (< 70) pour la durée larvaire et la fécondité.

L'avance génétique attendue (exprimée en pourcentage de la moyenne) varie de 5,70 à 20,76 pour la durée larvaire et le poids du cocon. On observe des valeurs relativement faibles pour la durée larvaire et le rendement en cocons en nombre. On observe des valeurs comparativement élevées pour le poids d'une coque, la fécondité, le rendement en cocons en poids, le poids larvaire et le poids d'un cocon.

Corrélation entre les caractères :

Les corrélations phénotypiques et génétiques entre les divers caractères sont présentées dans le Tableau IV. Dans la plupart des cas, il y a un accord étroit entre les corrélations phénotypique et génétique, tandis que dans d'autres cas, les différences sont très significatives, ce qui indique l'importance des effets de l'environnement pour estimer ces paramètres.

Parmi les huit caractères, seuls six caractères sont positivement corrélés avec le poids d'une coque. Sur ces six caractères, quatre caractères, le poids larvaire, le poids du cocon, la richesse soyeuse et la longueur du filament ont une corrélation significative positive élevée avec le poids d'une coque. La fécondité a une corrélation positive significativement élevée avec le rendement en cocons en nombre, le poids larvaire, le poids d'un cocon et une corrélation négative avec la durée larvaire et la richesse soyeuse. La durée larvaire a une corrélation positive significativement élevée avec la richesse soyeuse et une association négative avec le reste des caractères. Le poids larvaire a une association significativement élevée avec le poids d'un cocon, le rendement en cocons en poids et la longueur du filament. Le rendement en cocons en nombre a une corrélation positive significative avec le rendement en cocons au poids et a une corrélation significative négative avec la richesse soyeuse. Le rendement en cocons en poids a une corrélation positive significative élevée avec le poids d'un cocon. La longueur d'un filament a une corrélation positive très significative avec le poids d'un cocon et la richesse soyeuse.

Analyse du coefficient de " Path ":

Les corrélations génétiques sont analysées par la technique du coefficient de régression multiple (Path). Cette technique implique la division du coefficient de corrélation en effets directs et indirects par des caractères alternés ou chemins. Comme le poids de la coque est le résultat complexe de différents caractères, il est considéré comme une variable résultante et la fécondité, la durée larvaire, le poids larvaire, le rendement de cocons en nombre et en poids, le poids d'un cocon, la richesse soyeuse et la longueur du filament sont des variables résultantes (Figure 1).

Un exemple permet d'illustrer la méthode de coefficient de Path pour analyser les coefficients de corrélation. Le coefficient de corrélation du poids larvaire avec le poids d'une coque, $r = 0,570$ comprend 8 composants, dont la contribution relative s'illustre comme suit :

Poids larvaire contre poids d'une coque		$r = 0,570$
Effet direct		$P \times 3 Y = 0,157$
Effet indirect par la fécondité	r13	$P \times 1 Y = 0,085$
Effet indirect par la période larvaire	r23	$P \times 2 Y = -0,045$
Effet indirect par l'ERR en nombre	r34	$P \times 4 Y = 0,005$
Effet indirect par l'ERR en poids	r35	$P \times 5 Y = 0,021$
Effet indirect par le poids d'un cocon	r36	$P \times 6 Y = 0,520$
Effet indirect par la richesse soyeuse	r37	$P \times 7 Y = -0,125$
Effet indirect par la longueur du filament	r38	$P \times 8 Y = -0,048$
		Total = 0,570

En divisant le coefficient de corrélation entre ses composants, on sait ce qui contribue à la relation. L'effet indirect du poids du cocon a plus d'influence sur le poids d'une coque que l'effet direct. L'effet indirect du poids larvaire par l'effet de la durée larvaire, de la richesse soyeuse et de la longueur du filament montre une influence négative sur le poids d'une coque. Les effets directs et indirects de huit caractères associés sont présentés dans le Tableau V. Sur ces huit caractères, six caractères, la fécondité, la durée larvaire, le poids larvaire, le rendement en cocons en poids, le poids d'un cocon, la richesse soyeuse ont des effets positifs directs sur le poids d'une coque. L'effet indirect du poids larvaire par l'effet du poids d'un cocon est plus élevé que l'effet direct. Le rendement en cocons en poids, présente l'influence la moins directe sur le poids d'une coque, cependant il a un effet indirect par l'effet du poids d'un cocon. La longueur du filament est influencée indirectement par le poids de la coque, le poids d'un cocon et la richesse soyeuse. On suppose que la variable résiduelle $XR = -0,061$ est indépendante, ce qui permet une explication précise sur le mode d'interaction d'autres composants possibles du poids de la coque.

DISCUSSION

La variation que présentent les trente deux génotypes pour neuf caractères quantitatifs indique que la sélection de plusieurs de ces caractères pourrait être efficace. Cependant, l'efficacité de la sélection est liée à l'ampleur de l'héritabilité et à l'avance génétique (Johnson et coll., 1959). Dans cette étude, une héritabilité élevée est associée à un gain génétique élevé dans le cas du poids d'une coque, du poids d'un cocon et du poids larvaire, ce qui indique que les effets des gènes additifs sont importants pour déterminer ces caractères (Panse, 1957). Très probablement, la population pourrait être soumise à une sélection en masse ou à toute autre procédure de sélection modifiée pour exploiter ces effets des gènes additifs. Ces observations sont en accord avec celles de Petkov (1981) et Rao et coll. (1989) chez *Bombyx mori* L. et Sen et coll., (1976) chez *Antheraea mylitta* D. Ainsi la sélection de génotypes supérieurs à partir du poids d'une coque, du poids d'un cocon et du poids larvaire devrait être efficace en soi.

L'héritabilité élevée avec un faible gain génétique pour les autres caractères est sûrement due à des interactions intra et inter-alléliques, ce qui suggère qu'une sélection récurrente pourrait être utile pour améliorer ces traits (Sen et coll., 1976). Le rendement en cocons en nombre, la longueur du filament, la fécondité et la durée larvaire présentent une héritabilité modérée (< 70 %) et le rendement en cocons en nombre une héritabilité plus faible (53,04 %). Le résultat indique que le rendement en cocons étant un caractère complexe chez le ver à soie, il est peut être soumis à un degré élevé de variation non héréditaire, ce qui entraîne une héritabilité faible (Gamo et Hirabayashi, 1983 ; Bhargava et coll., 1993). Il apparaît qu'à l'exception du rendement en cocons en nombre et de la longueur du filament, tous les caractères étudiés peuvent être améliorés sur la base de la performance phénotypique.

Pour une approche plus efficace de l'amélioration du poids d'une coque, la sélection doit être opérée sur ses composants. Les traits du composant qui sont fortement corrélés avec le poids d'une coque comme base de la sélection minimiseraient l'effet de l'épistasie et ainsi la liaison génétique n'influencerait pas la moyenne de la descendance pour n'importe quel trait. Dans cette étude, le poids de la coque est corrélé positivement et très significativement avec le poids larvaire, le poids d'un cocon, la richesse soyeuse et la longueur du filament, ce qui confirme les études précédentes de Chatterjee et coll., (1993) et Nagaraju (1998). Les coefficients de corrélation généralement décrits entre les caractères sont inadaptés pour interpréter la relation de cause à effet. Les coefficients de corrélation entre les divers caractères peuvent être divisés en relation directe et indirecte grâce à la technique d'analyse de Path (Dewey et Lu, 1959). Les résultats obtenus avec l'analyse du coefficient de Path révèlent que le poids d'un cocon, la richesse soyeuse, la période larvaire et la fécondité ont un effet direct positif maximum sur le poids d'une coque. L'effet indirect du poids larvaire par l'effet du poids d'un cocon est plus élevé que son effet direct. Il est évident que le poids d'un cocon et le poids larvaire sont les composants importants pour le poids d'une coque chez le ver à soie, comme ils sont positivement corrélés avec la plupart des caractères étudiés. Des résultats similaires ont été signalés par Yan (1983) et Yan (1989) chez le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L. et par Sen et coll., (1976) chez le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* D.

D'après nos résultats, nous concluons que la sélection doit porter à la fois sur le poids d'un cocon, la richesse soyeuse, le poids larvaire, la fécondité et la durée larvaire pour améliorer le rendement en soie chez *Bombyx mori* L.

**DEVELOPMENT, STRUCTURE AND SECRETORY ACTIVITY
OF SILK GLAND COMPLEX IN THE TROPICAL TASAR
SILKWORM *ANTHRAEA MYLITTA* (DRURY)
(LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)**

D. D. BARSAGADE & D. B. TEMBHARE

Department of Zoology, Nagpur University Campus, NAGPUR - 440 010, India.

The gradual development of the silk gland complex occurs from the first to fifth instar larvae of the tasar silkworm, Anthraea mylitta. The development and functional activity accelerates predominantly in the fifth instar larva in which each silk gland is differentiated into the anterior, middle and posterior regions distinctly. The middle and posterior regions of the silk glands are enormously coiled and secrete the silk protein secretion in the 6th to 18th day old larvae. During the growth and secretory phases, the cells and nuclei show an enhanced hypertrophy. The posterior region of the silk glands is the largest one and the lumen is filled with silk protein secretion till the commencement of spinning. During the spinning period (18-21 days) the transport of the silk protein secretion from middle and posterior regions of the silk glands takes place continuously. Finally, the release of a fine silk thread from the spinneret and subsequent spinning of a cocoon is well evident. Soon after spinning the epithelial cells of middle and posterior regions of the silk glands undergo an acute regression and degeneration.

Keywords: *Anthraea mylitta*, silk gland, silk protein secretion.

INTRODUCTION

The structure, development, secretory activity and degeneration of the silk glands and the biochemical characterisation of the silk proteins have been thoroughly studied in *Bombyx mori* and some temperate wild silkworms (Prudhomme *et al.*, 1985; Sehnaal and Akai, 1990), while very little information is available on that of the tropical tasar silkworm, *Anthraea mylitta* (Daba race) which is widely cultivated for the commercial production of tasar silk in India (Jolly *et al.*, 1974, 1979).

The present work was, therefore, undertaken to explore the development, structure and secretory activity of the silk gland in the tropical tasar silkworm, *Anthraea mylitta*.

MATERIALS AND METHODS

The non-diapausing cocoons of the second crop of trivoltine tropical tasar silkworm, *Anthraea mylitta* (Daba race) were brought to the laboratory from 'the Central Tasar Research and Training Institute's Basic, Seed Multiplication and Training Centre', Dawadipar, Bhandara (M.S.) India and reared on *Terminalia tomentosa* (Assan) and *Terminalia arjuna* (Arjun) plants grown in the premises of the centre of sericulture of Nagpur University during the months of July to January of the years 1994-1997 according to the method given by Jolly *et al.*, (1979).

Histological techniques

The silk gland complex was dissected from the first to fifth instar larvae in Ringer's solution and immediately fixed in aqueous Bouin's fluid, dehydrated in various grades of ethanol, cleared in xylene and embedded in paraffin wax at 60-62 °C. The 4-6 µm thick sections were cut and stained with Ehrlich's haematoxylin eosin (HE) and Heidenhain's iron haematoxylin orange-G (IH) staining techniques.

Scanning Electron Microscopy

The maxillo-labial-hypopharyngeal complex was dissected out from the larvae and the spinneret with silk press was removed. The organs were fixed on the metallic stub at different angles with the help of Fevicol and proceeded for gold-coating unit and scanned under the Stereoscan 250 mk III Cambridge Scanning Electron Microscope (SEM) at desirable magnifications at the Regional Sophisticated Instrumentation Centre, Nagpur University, Nagpur.

The silk gland total protein estimation

The larvae were anaesthetised with a little quantity of chloroform soaked cotton pad, dissected out in ice-cold insect Ringer's solution and the silk glands were pulled out from the body of newly emerged, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 days old larvae. The trachea and adhering tissues were removed and the middle and posterior regions of the silk glands were separated. The middle and posterior regions were weighed to (0.001) mg accuracy and were homogenised for 3 minutes at 0 °C in 2 ml ice-cold phosphate buffered saline (pH -7.0) using a pestal mortar. The silk gland total protein concentration was estimated by Lowry *et al.*, (1951) method on the spectrophotometer (Milton and Roy USA) at 660 nm.

RESULTS

Development

The silk gland complex is well-evident since the first instar larval stage in which it is extended as the fine thread-like milky-white structure from the apical tip of maxillo-labial-hypopharyngeal complex to the fourth abdominal segment. During metamorphosis, the silk gland complex increases in size gradually in the subsequent larval instars and appears predominantly on either side of the alimentary canal in the thoracic and abdominal regions of the body. It is richly supplied with fine trachea and embedded in the fat body.

The gradual growth of the silk gland complex from the first to the fifth instar larvae is given in Table I. The silk glands are differentiated into two regions anterior and posterior upto fourth instar and lastly into three regions : anterior, middle and posterior in the last instar larva (Figs 1, 2). Similarly, the cytomorphological observations show a successive increase in the size of nuclei, cells and cuticular intima of the silk gland during the larval development (Table II).

Histomorphology

A maximum development of the silk gland complex occurs in the last instar larva. Each silk gland is extended upto the eighth abdominal segment. It consists of the apical spinneret, the silkpress, a pair of Fillipi's glands, a common silk gland duct and a pair of coiled silk glands (Fig 3). Each silk gland is well-differentiated into the anterior, middle and posterior regions. The posterior region of the silk gland (PSG) is larger than the middle one (MSG), while the anterior region of the silk gland (ASG) is thin, tubular and shorter than the MSG and PSG.

The spinneret is a cuticular tubular structure. The apical conelike region bulges out above the prementum of the labium and bears an orifice of 70 ± 3.5 µm diameter midventrally (Figs 4, 5).

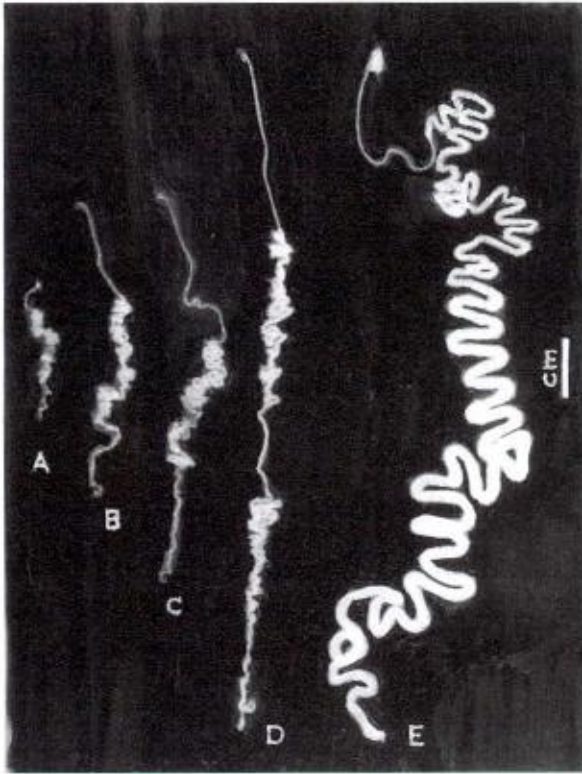


Fig 1. Development of the silk gland from the first to fifth instar larvae.

A - first instar, B- second instar, C- third instar, D- fourth instar and E - fifth instar larva.

Fig 1. Développement de la glande séricigène chez les larves du premier au cinquième âge.

A- Larves du premier âge, B- deuxième âge, C- troisième âge, D- quatrième âge et E- cinquième âge.

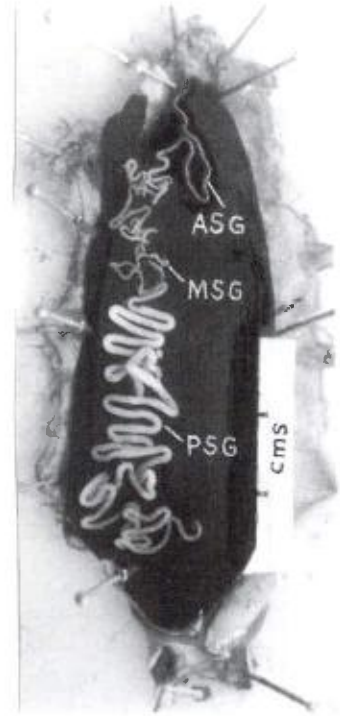


Fig. 2. The silk gland in the fifth instar larva showing differentiation into three regions - anterior silk gland (ASG), middle silk gland (MSG) and posterior silk gland (PSG).

Fig. 2. La glande séricigène chez les larves de cinquième âge présentant une différenciation en trois zones - glande séricigène antérieure (ASG), glande séricigène médiane (MSG) et glande séricigène postérieure (PSG).

The wall of common silk gland duct (CSGD) is made up of a single layer of epithelium externally and a thick double layered cuticular intima internally. The CSGD consists of a midventral cuticular ridge, the raphe (Figs 6, 7). The raphe is $480 \pm 20.3 \mu\text{m}$ in length and $85 \pm 3.5 \mu\text{m}$ in width. The inner surface of CSGD is serrated (Fig 8). The apical end of the CSGD opens through the orifice lying on the spinneret midventrally.

Table I. Morphometric changes during development of silk glands in *A. mylitta*.

Tableau I. Changements morphométriques pendant le développement des glandes séricigènes chez A. mylitta.

Larval instar	Length (cm)	Silk gland			Weight (gm)
		Diameter (µm)			
		ASG	MSG	PSG	
I	3.50 ± 0.03	46.66 ± 3.5	-	113.33 ± 8.2	0.009 ± 0.002
II	5.30 ± 0.08	93.33 ± 6.58	-	133.00 ± 10.25	0.018 ± 0.003
III	8.00 ± 0.65	96 ± 5.35	-	160.00 ± 7.50	0.023 ± 0.008
IV	14.00 ± 1.20	98.66 ± 5.62	-	206.66 ± 7.55	0.045 ± 0.007
V	76.00 ± 4.20	285.00 ± 12.25	714 ± 20.45	1214 ± 30.28	1.60 ± 0.21

± - Standard error of a mean / *Ecart type*.

ASG, MSG, PSG - anterior, middle and posterior regions of the silk glands / *zones antérieure, médiane et postérieure des glandes séricigènes*.

The silk press is an oblong, sac-like structure modified from the CSGD just behind the spinneret. It receives paired hypopharyngeal and labial muscles. The silk press is 613 ± 13.51 µm in length and 226 ± 8.66 µm in width (Fig. 6).

The Fillipi's glands (FG) are paired tiny structures and open into CSGD at the junction of ASG. Each FG is composed of large spherical epithelial cells with distinct nuclei and granular cytoplasm. Internally, they are lined with a thick double layered intima (Fig. 9). The lumen is large and filled with a variable amount of secretory material.

Table II. Histomorphological changes during development of silk glands in *Antheraea mylitta*.

Tableau II. Changements histomorphologiques pendant le développement de la glande séricigène chez *Antheraea mylitta*.

Larval instars	Length of cells (μm)			Nuclei (μm)			Thickness of cuticular intima (μm)		
Ages larvaires	Longueur des cellules (μm)			Noyaux (μm)			Épaisseur des intima cuticulaires (μm)		
	ASG	MSG	PSG	ASG	MSG	PSG	ASG	MSG	PSG
I	10.0 \pm 0.85	-	42.33 \pm 3.58	3.33 \pm 0.40	-	3.3 \pm 2.90	1.50 \pm 0.21	-	0.7 \pm 0.1
II	16.44 \pm 1.20	-	43.33 \pm 3.58	3.33 \pm 0.40	-	20.0 \pm 1.50	3.0 \pm 0.18	-	0.83 \pm 0.12
III	20.0 \pm 1.52	-	45.35 \pm 4.62	5.0 \pm 0.72	-	30.0 \pm 2.52	4.0 \pm 0.56	-	1.66 \pm 0.23
IV	26.66 \pm 2.53	-	50.66 \pm 2.35	10.33 \pm 1.0	-	28.0 \pm 1.55	5.0 \pm 0.45	-	2.0 \pm 0.40
V	60.0 \pm 4.35	157.14 \pm 12.36	200.0 \pm 12.28	20.0 \pm 1.52	85.71 \pm 4.50	85.71 \pm 4.50	13.35 \pm 1.26	4.0 \pm 0.85	3.33 \pm 0.26

\pm - Standard error of a mean / *Ecart type*.

ASG, MSG, PSG - anterior, middle and posterior regions of the silk glands / *zones antérieure, médiane et postérieure des glandes séricigènes*

The silk glands are fully-developed in the matured last instar larva. Each silk gland is differentiated into the anterior, middle and posterior regions measuring about 9 ± 0.6 , 30 ± 1.7 and 37 ± 1.9 μm in length respectively (Fig. 3). The silk glands are typically composed of the outer acellular basement membrane, middle epithelium and inner cuticular intima.

The wall of ASG is composed of tall epithelial cells. In the epithelial cells, the outer region is filled with cytoplasmic inclusion while the inner one is devoid of cytoplasmic inclusion and characterised with vigorous membranous enfoldings. The lumen is empty prior to the silk protein secretion transported from the middle and posterior regions during the spinning period (Figs 10, 11).

The wall of MSG is composed of tall epithelial cells with centrally placed nuclei. The cytoplasmic inclusion is scattered throughout the cell body. The chromatin material is granular initially but later on it becomes clumped into the elongated spindle-shaped bodies. The cell bodies are filled with a variable quantity of cytoplasmic inclusion along with a few vacuoles and opaque secretory droplets which are discharged into the lumen during the spinning period (Figs 12, 13).

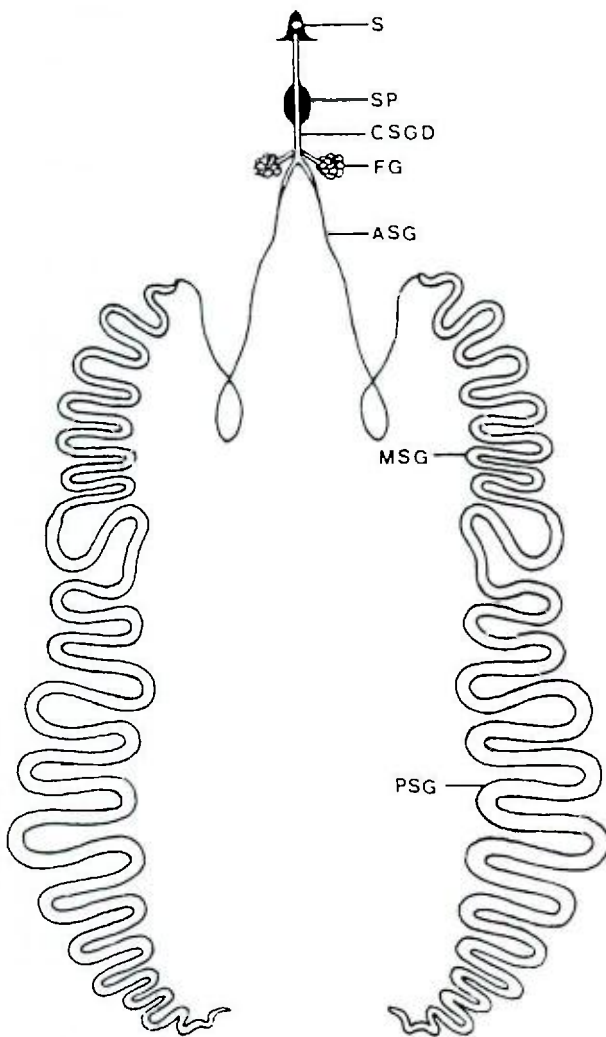


Fig. 3 - The silk gland complex in *Antheraea mylitta* (Diagramatic) -

S - Spinneret, SP - silk press, CSGD - common silk gland duct, FG - Fillipi's gland, ASG - anterior silk gland, MSG - middle silk gland and PSG - posterior silk gland.

Fig. 3 - L'appareil séricigène chez *Antheraea mylitta* (diagramme)

S - Filière, SP - presse, CSGD - canal commun des glandes séricigènes, FG - glande de Fillipi, ASG - glande séricigène antérieure, MSG - glande séricigène médiane et PSG - glande séricigène postérieure.

The wall of PSG is composed of tall epithelial cells with large, oval or elliptical nuclei. The epithelial cells are filled with granular secretion and a large number of opaque secretory droplets into the lumen during the spinning period (Figs 14, 15).

Cyclical activity

The last instar larva of *Antheraea mylitta* undergoes pupation after a period of 21 days. The silk glands show a rapid development initially and there after the middle and posterior regions of the silk glands secrete the silk protein secretion till the spinning period. The spinning of the cocoon occurs during the last three days i.e. 18 to 21 days. The silk glands, particularly MSG and PSG undergo

degeneration during pupation. The ASG is non-secretory while the MSG and PSG are secretory parts of the silk gland. They show a remarkable cyclical activity.

The middle region of silk gland (MSG)

In the newly emerged larva, MSG consists of tall epithelial cells ($42.85 \pm 1.36 \mu\text{m}$). The nuclei are oval and are situated at the centre, while the cytoplasmic inclusion is scattered throughout the cell bodies. The epithelial cells increase in size gradually ($57.14 \pm 3.5 \mu\text{m}$) along with the nuclei and contain cytoplasm densely in the 6th day old larva. The MSG epithelial cells show a rapid development in the 9th day old larva. The nuclei become elliptical and the cells are densely filled with cytoplasmic inclusion, suggesting the initiation of the secretory phase. The secretory material is accumulated in the distal region of the epithelial cells lying in close vicinity of the lumen in the 12th day old larva. The secretory material can be seen in the lumen in 15th day old larva. In the 18th to 21st days old larvae, the lumen of MSG contains secretory material secreted by both the MSG and PSG and transported to the spinneret continuously. In the lumen of MSG and ASG the fibrous secretory material of the PSG often lies at the centre embedded into the colloidal secretory material of the MSG. At this stage the cuticular intima of MSG is broken into thin concentric layers (Figs 16-18).

During the spinning period (18-21 days) the epithelial cells possess large widely-lobulated nuclei and a bulk of secretory globules and are thereafter regressed greatly.

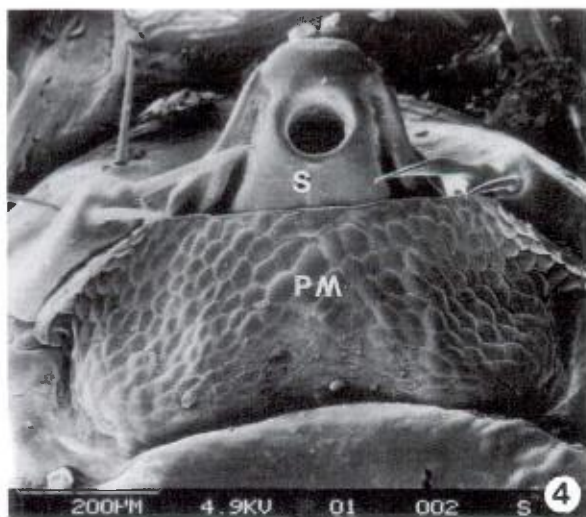


Fig. 4 - SEM of maxillo-labial complex showing apical spinneret (S) with a midventral orifice (O) above the prementum (PM).

Fig. 4 - Microscopie électronique à balayage de l'appareil maxillo-labial montrant la filière apicale (S) avec un orifice médio-ventral (O) au-dessus du prementum (PM).

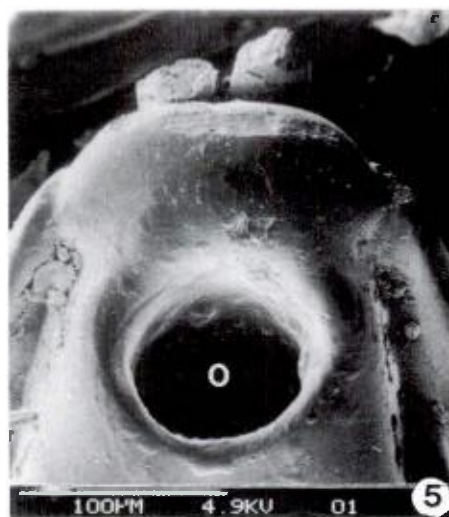


Fig. 5. Magnified view of orifice (O) of the spinneret (S).

Fig. 5. Agrandissement de l'orifice (O) de la filière (S).

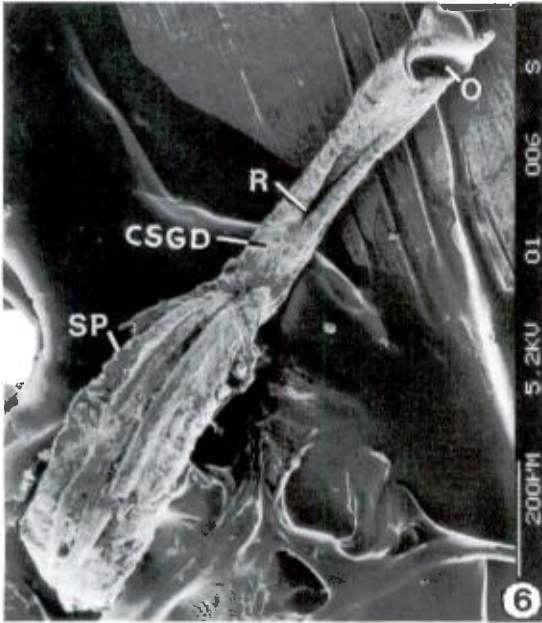


Fig. 6. Spinneret (S) and silk press (SP) with a mid-ventral raphae (R).

Fig. 6. Filière (S) et presse (SP) avec un raphé médio-ventral (R).

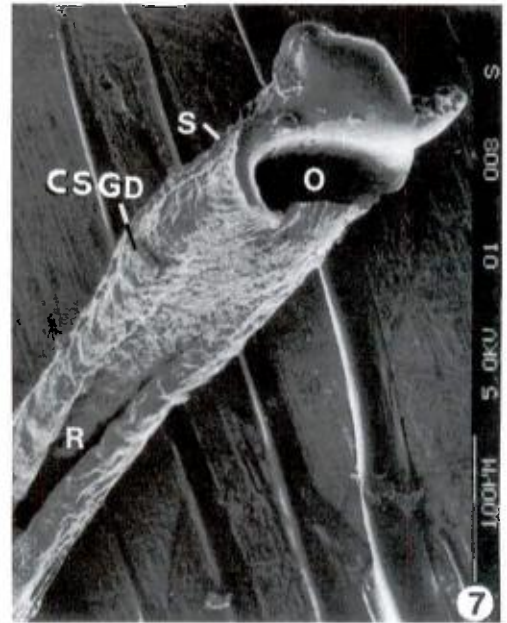


Fig 7. Magnified view of spinneret.

Fig 7. Vue agrandie de la filière.

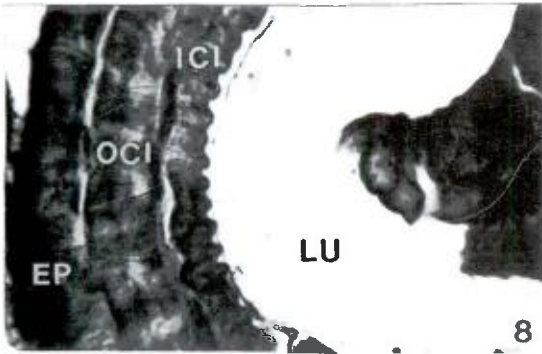


Fig. 8. Cross section of common silk gland duct (CSGD) showing outer epithelium (EP), outer cuticular intima (OCI) and the inner cuticular intima (ICI) with internal serrated margin towards lumen (LU). IH \times 360.

Fig. 8. Coupe du canal commun de la glande séricigène (CSGD) montrant l'épithélium externe, les intima cuticulaires externes (OCI) et les intima cuticulaires intérieures (ICI) avec une marge interne en dents de scie vers la lumière (LU). IH \times 360.

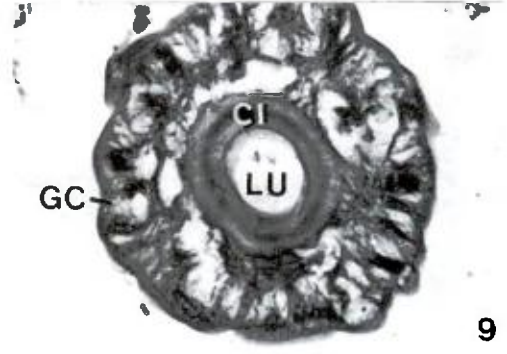


Fig 9. Cross section of Fillipi's gland showing glandular cells (GC) toward the periphery and central large lumen (LU) encircled by double layered cuticular intima (CI). IH \times 360.

Fig. 9. Coupe de la glande de Fillipi montrant les cellules glandulaires (GC) vers la périphérie et le centre de la grande lumière (LU) encerclée par des intima cuticulaires à double couche (CI). IH \times 360.



Fig. 10. Section of the ASG showing epithelium (EP), cuticular intima (CI) and Lumen (LU). IH \times 260.

Fig 10. Coupe de l'ASG montrant l'épithélium (EP), les intima cuticulaires (CI) et la lumière (LU). IH \times 260.

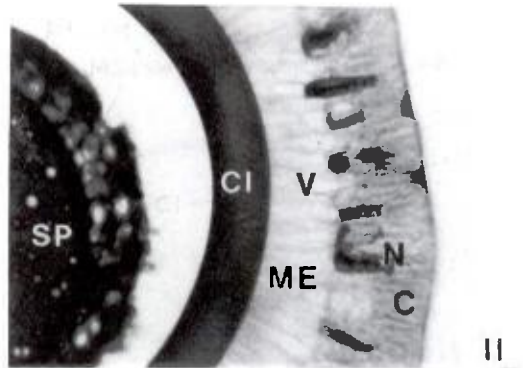


Fig. 11. Section of the ASG showing silk protein (SP) inside the lumen (LU), vacuoles (V), membranous enfolding (ME) and elongated nuclei (N) in epithelial layer. IH \times 360.

Fig. 11. Coupe de l'ASG montrant les protéines de soie (SP) à l'intérieur de la lumière (LU), des vacuoles (V), des enveloppes membranaires (ME) et des noyaux allongés (N) dans la couche épithéliale. IH \times 360.

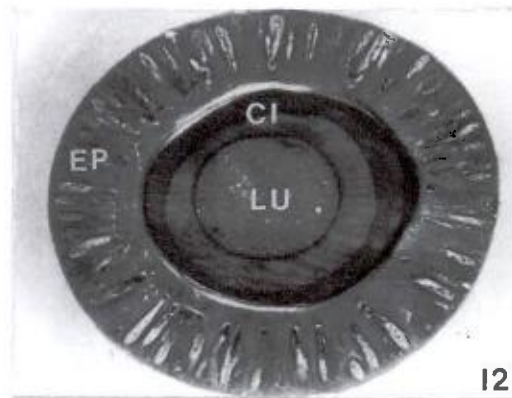


Fig 12. Section of the MSG showing epithelium (EP), cuticular intima (CI) and lumen (LU). IH \times 260.

Fig 12. Coupe de la MSG montrant l'épithélium (EP), les intima cuticulaires (CI) et la lumière (LU). IH \times 260.

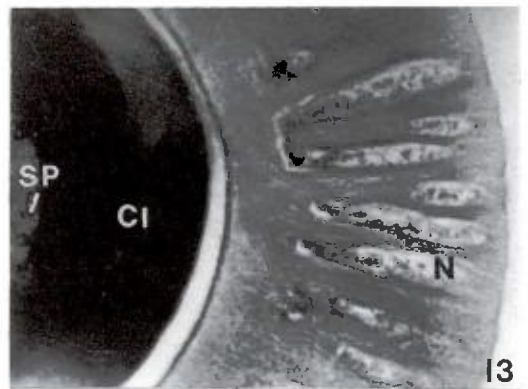


Fig. 13 - Section of the MSG showing elongated nuclei (N) in epithelium and cuticular intima (CI) followed by silk protein (SPT) in the lumen. IH \times 360.

Fig. 13 - Coupe de la MSG montrant des noyaux allongés (N) dans l'épithélium et les intima cuticulaires (CI) suivis par les protéines de soie (SPT) dans la lumière. IH \times 360.

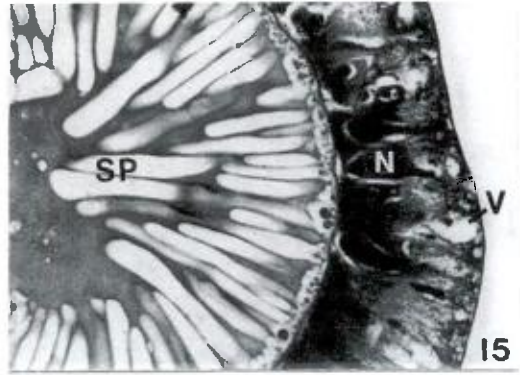
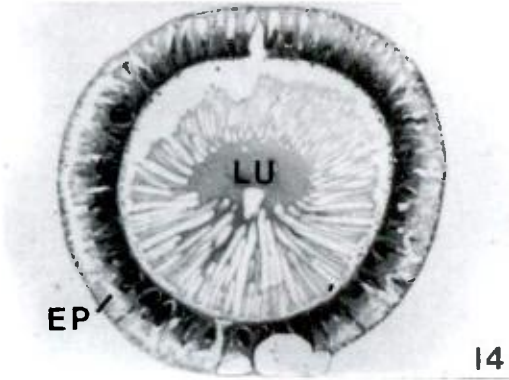


Fig. 14 - Section of the PSG showing epithelium (EP) and lumen (LU). IH \times 260.

Fig. 15 - Section of the PSG showing oval shaped nuclei (N), vacuoles (V) in the epithelium and silk protein (SPT) in the lumen. IH \times 360.

Fig. 14 - Coupe de la PSG montrant l'épithélium (EP) et la lumière (LU). IH \times 260.

Fig. 15 - Coupe de la PSG montrant des noyaux de forme ovale (N), des vacuoles (V) dans l'épithélium et les protéines de soie (SPT) dans la lumière. IH \times 360.

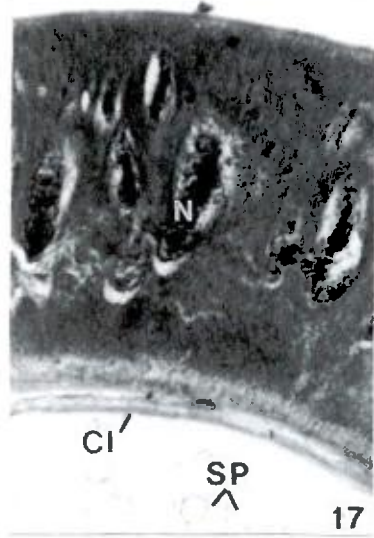
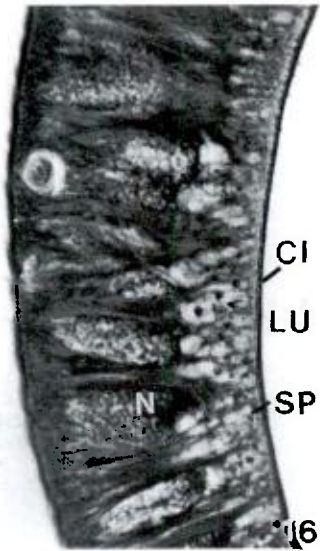


Fig. 16 - Section of the 9 day old MSG showing elongated nuclei (N), silk protein (SPT) accumulated toward the cuticular intima (CI) and empty lumen (LU). IH \times 288.

Fig. 17 - Section of the 15 day old MSG showing fully packed nuclei (N), cuticular intima (CI) and silk protein (SPT) in the lumen. IH \times 360.

Fig. 16 - Coupe de la MSG de 9 jours montrant des noyaux allongés (N), les protéines de soie (SPT) accumulées vers les intima cuticulaires (CI) et la lumière vide (LU). IH \times 288.

Fig. 17 - Coupe de la MSG de 15 jours montrant des noyaux assemblés densément (N), les intima cuticulaires (CI) et les protéines de soie (SPT) dans la lumière. IH \times 360.



Fig 18. Section of 18 days old MSG showing scanty nuclei (N), vacuoles (V) in epithelium, thin concentric layers (TC) in cuticular intima and silk protein (SPT) in the lumen. IH \times 360.

Fig. 18 - Coupe de la MSG de 18 jours montrant peu de noyaux (N), des vacuoles (V) dans l'épithelium, des couches concentriques minces (TC) dans les intima cuticulaires et les protéines de soie (SPT) dans la lumière. IH \times 360.

The posterior region of silk gland (PSG)

In the newly emerged larva, the epithelial cells constitute $53 \pm 1.16 \mu\text{m}$ thick wall of the PSG. The cells contain large, oval-shaped nuclei at the centre and are filled with cytoplasmic inclusion and a few vacuoles. The PSG epithelial cells increase in size gradually, along with nuclei and the cytoplasmic content. The nuclei become large and lobulated and are densely packed with chromatin material. The secretory droplets are well evident in the cell bodies as well as in the lumen of PSG in the 12th day old larva. In the 18th and 20th day old larvae, fusion and elongation of secretory droplets can be seen in the lumen (Figs 19-21).

As the spinning process is terminated on the 21st day, the epithelial cells of both MSG and PSG reduce greatly, contain a large number of vacuoles, a negligible amount of cytoplasmic inclusion and greatly reduced nuclei with the clumped chromatin material.

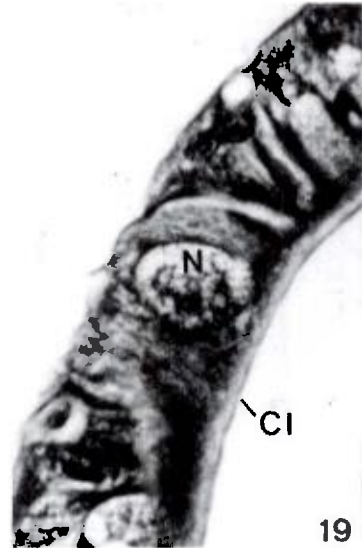


Fig 19 - Section of the 0-day old PSG showing oval nuclei (N), in epithelium followed by cuticular intima (CI). IH \times 260.

Fig. 19. Coupe de la PSG de 0 jour montrant des noyaux ovales (N) dans l'épithelium, suivis par des intima cuticulaires (CI). IH \times 260.

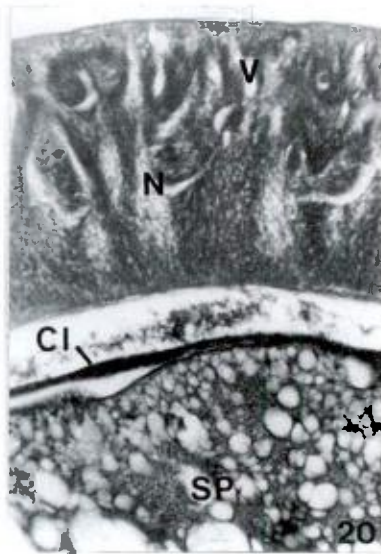


Fig 20 - Section of the 12 day old PSG showing densely filled nuclei (N), vacuoles (V) in the epithelium, thick cuticular intima (CI) and globular silk protein (SPT) in lumen. IH \times 360.

Fig. 20 - Coupe de la PSG de 12 jours montrant des noyaux densément remplis (N), des vacuoles (V) dans l'épithélium, des intima cuticulaires épaisses (CI) et de la protéine de soie globulaire (SPT) dans la lumière. IH \times 360.

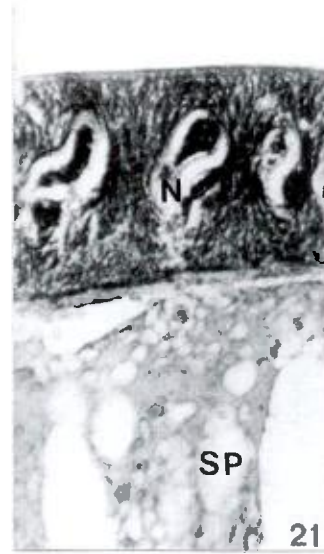


Fig 21. Section of the 21 days old PSG showing clumped nuclei (N) and elongated silk protein (SPT) droplets in the lumen. IH \times 360.

Fig 21 - Coupe de la PSG de 21 jours montrant des noyaux compacts (N) et des gouttes de protéine de soie étirées (SPT) dans la lumière. IH \times 360.

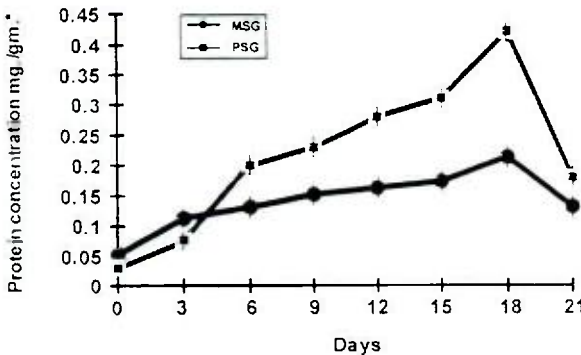


Fig 22 - MSG and PSG protein concentration.

Fig 22- Concentration en protéines de la MSG et de la PSG.

Vertical bars represent standard errors (\pm SE).
Les barres verticales indiquent l'écart type (\pm SE).

* Wet weight of silk gland in gm. / Poids frais de la glande séricigène en grammes.

Total protein concentration

Total protein concentration in MSG and PSG since emergence till termination of spinning is shown in the fig 22. The significant gradual increase of total protein concentration in MSG and PSG occurs in the 6th to 18th day old larvae during the secretory phase and falls down greatly in the 18th to 21st day old larvae, during a spinning period.

DISCUSSION

Development, structure and secretory activity of the silk glands in *A. mylitta* have been thoroughly investigated during the present study. The silk glands in *A. mylitta* are well-evident as the fine thread-like structures since the first instar larvae. Up to the fourth instar, they are however, differentiated into anterior and posterior regions while in the fifth instar three regions, i.e., anterior, middle and posterior become distinct. Differentiation of silk glands into three regions-anterior (ASG), middle (MSG) and posterior (PSG) as the non-secretory, sericin secretory and fibroin secretory regions, respectively has been noticed in *Bombyx mori* and other silkworms also (Prudhomme *et al.*, 1985, Sehnal and Akai, 1990). The present study on *A. mylitta* also reveals the differentiation of silk glands into three regions similar to that found in *B. mori*, but the middle region in *A. mylitta* is comparatively smaller in diameter than the posterior region and it is coiled rather than tubular as found in *B. mori*. From the first to the fifth instar larvae the silk glands of *A. mylitta* grow gradually showing an increase in length and diameter externally and an enlargement of the cells and nuclei internally. The maximum growth of the silk glands occurs in the last larval instar similar to that reported in *B. mori* (Sehnal *et al.*, 1983). In the last instar larvae of *A. mylitta* the weight of the paired silk glands increases forty times from the newly moulted instar till the spinning stage which is much similar to that of *B. mori* (Fayard, 1978). The full-grown silk glands in *B. mori* are about 24 cm long comprising 8% ASG, 28% MSG and 64% PSG regions (Prudhomme *et al.*, 1985) while the silk glands in *A. mylitta* are longer than that in *B. mori* (about 76 cm) and differentiated into 11% ASG, 41% MSG and 48% PSG regions.

Ito (1915), described the metamorphosis of silk glands of *B. mori*, whereas other workers reported that the silk glands show endomitotic development and the cells contain polyploid, multilobulated nuclei and vacuolated cytoplasm (Ono, 1951, Suzuki and Suzuki, 1974; Perdrix-Gillot, 1979, Akai, 1984). In relation to secretory activity, an enlargement of the glands, cells, multilobulated nuclei, secretory material and vacuoles are also well-evident in the histological preparations of the silk glands of *A. mylitta*. In *B. mori* the fibroin microfibrils pass through the silk press and are converted into a very fine extensively long silk thread emerging outside through a fine orifice situated at the tip of the spinneret (Sehnal and Akai, 1990). In *A. mylitta* also, the silk press and spinneret are well-developed. The CSGD appears as a long cuticular tube bearing an orifice apically and cuticular ridge, raphe, distally. The silk press is well-developed and it is moreover, operated by two pairs of muscles similar to that in *B. mori* (Richards and Davis, 1977). The size and surface ultrastructure of the spinneret, raphe and apical orifice in *A. mylitta* differ from that in *B. mori* and seem to be species-specific. The Fillipi's glands open at the apical region of the ASG in *A. mylitta* similar to that in *B. mori* and other silkworms (Machida, 1965; Waku and Sumimoto, 1974 and Sehnal and Akai, 1990).

The silk glands in the last instar of silk producing lepidopteran larvae are known to pass through four consecutive phases, i.e. growth, secretory, regression and degenerative phases and are revealed in *B. mori* (Tashiro *et al.*, 1976) and *Galleria mellonella* (Sehnal *et al.*, 1983; Sehnal and Akai, 1983). In *A. mylitta* consecutive histological and biochemical studies, moreover, reveal that the silk glands pass through the growth phase since emergence till the sixth days, the secretory phase commences from the sixth to the 18th day i.e. prior to the onset of spinning, the regression phase in the 18th to 21st old larvae and degeneration phase during the prepupal period.

During the growth phase in *A. mylitta*, the enlargement of the silk glands takes place vigorously. The size of the nuclei and perikarya increases rapidly and the chromatin material gets concentrated

in the nuclei. Besides rapid synthesis and accumulation of the chromatin material in nuclei and cytoplasmic inclusion in the cell bodies, the growth phase is also characterised by the continuous growth and pigmentation of cuticular intima similar to that found in other species of silkworms (Sehnal and Akai, 1990). During the secretory phase in *A. mylitta*, the nuclei and perikarya of MSG and PSG grow rapidly, the chromatin material is finely granular and spread throughout the nuclei and the perikarya contain cytoplasmic inclusion, often accumulated towards the lumen. The secretory material is evident in the lumen of PSG and MSG from the 12th and 15th day, respectively and later on the amount of secretory material increases rapidly in both the silk glands. The role of the MSG region as the store-house for fibroin material secreted by PSG is reported in *B. mori* (Prudhomme *et al.*, 1985; Sehnal and Akai, 1990), while in *A. mylitta* both MSG and PSG store their secretion in the lumen independently till the commencement of spinning.

ACKNOWLEDGEMENT

The Teacher Fellowship awarded to one of us (DDB) by the University Grants Commission, New Delhi is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- AKAI H. (1984) The ultrastructure and function of the silk gland cells of *Bombyx mori*. In: Insect Ultrastructure. R.C. King and H. Akai eds., Vol 2, Plenum, New York, pp 323-364.
- FAYARD J. M. (1978) Production de soie et caractéristiques des glandes séricigènes de 13 races de ver à soie *Bombyx mori*. Ann. Genet. Sel. Anim. 10, 259-270.
- ITO H. (1915) On the metamorphosis of the silk glands of *Bombyx mori*. Bull. Imp. Tokyo Sericult. Coll. 1 (2), 19-43.
- JOLLY M.S., SEN S.K., AHSHN M. M. (1974) Tasar Culture, Ambika publishers, Bombay pp. 252.
- JOLLY M. S., SEN S. K., SONWALKAR T. N., PRASAD G. K. (1979) Non-mulberry silks FAO Agric Serv. Bull., 29, 1-178.
- 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.
- MACHIDA Y. (1965) Studies on the silk gland of the *Bombyx mori* L. I. Morphological and functional studies of Fillipi's glands in the silkworm. Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ. 22, 95-108.
- ONO M. (1951) Studies on the growth of the silk gland cell in silkworm larvae. Bull. Sericult. Exp. Stn. 13, 247-303.
- PERDRIX-GILLOT S. (1979) DNA synthesis and endomitosis in the giant nuclei of the silk gland of *Bombyx mori*. Biochimie (Paris) 61, 171-204.
- PRUDHOMME J.C., COUBLE P., GAREL J. P., DAILLIE J. (1985) Silk synthesis, In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. G.A. Kerkut and L.I. Gilbert eds., Vol. 10, Pergamon Press Oxford, pp. 571-594.
- RICHARDS O.W., DAVIES R.G. (1977) Imm's General Textbook of Entomology Vol. 1, 3rd edn. Chapman and Hall, London.
- SEHNAL F., AKAI H. (1983) Ultrastructure and function of silk glands in *Galleria mellonella*. In: The Ultrastructure and Functioning of Insect Cells. (H. Akai, R.C. King and S. Morohoshi eds.) Soc. Insect Cell Japan, Tokyo pp. 135-138.
- SEHNAL F., AKAI H. (1990) Insect silk glands: their types, development and function and effects of environmental factors and morphogenetic hormones on them. Int. J. Insect Morphol. Embryol, 19, 79-132.
- SEHNAL F., JANDA V., NEMEC V. (1983) Composition, synthetic and cytolytic activities of *Galleria mellonella* silk glands during the last larval instar under the action of juvenile hormone. J. Insect Physiol. 29, 237-248.
- SUZUKI Y., SUZUKI E. (1974) Quantitative measurements of fibroin messenger RNA synthesis in the posterior silk gland of normal and mutant *Bombyx mori*. Mol. Bio. 88, 393-407.

- TASHIRO Y., SHIMAADZU T., MATSURA S. (1976) Lysosomes and related structures in the posterior silk gland cells of *Bombyx mori* L. in late larval stadium. Cell struct. Funct. 1, 205-222.
- WAKU Y., SUMMIMOTO K. (1974) Ultrastructure of Lyonnet's gland in the silkworm *Bombyx mori* L. J. Morphol. 142, 165-186.

DEVELOPPEMENT, STRUCTURE ET ACTIVITE SECRETRICE DE L'APPAREIL SERICIGENE CHEZ LE VER A SOIE TASAR TROPICAL *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

D. D. BARSAGADE & D. B. TEMBHARE

Department of Zoology, Nagpur University Campus, NAGPUR – 440 010, Inde.

Le développement progressif de l'appareil séricigène a lieu chez les larves du ver à soie tassar, Anthraea mylitta du premier au cinquième âge. Le développement et l'activité fonctionnelle s'accroissent surtout au cinquième âge pendant lequel la glande séricigène se différencie distinctement entre les zones antérieure, médiane et postérieure. Les zones médiane et postérieure des glandes séricigènes sont très entortillées et elles sécrètent de la soie quand les larves sont âgées de 6 à 18 jours. Pendant les phases de croissance et de sécrétion, l'hypertrophie des cellules et des noyaux se renforce. La région postérieure des glandes séricigènes est la plus grande et la lumière est remplie de protéines de soie jusqu'au début du filage. Pendant la période de filage (du 18^{ème} jour au 21^{ème} jour) les protéines de soie sont transportées continuellement à partir des zones médiane et postérieure des glandes séricigènes. Finalement, la filière libère un fil de soie fin et le filage consécutif du cocon commence. Peu après le filage, les cellules épithéliales des zones médiane et postérieure des glandes séricigènes régressent et dégèrent fortement.

INTRODUCTION

La structure, le développement, l'activité sécrétrice et la dégénérescence des glandes séricigènes et la caractérisation biochimique des protéines de soie ont été étudiés en détail chez *Bombyx mori* et chez certains vers à soie sauvages tempérés (Prudhomme et coll., 1985 ; Sehna et Akai 1990), mais il existe très peu d'information sur le ver à soie tassar tropical, *Anthraea mylitta* (race Daba) qui est élevé intensivement pour la production commerciale de soie tassar en Inde (Jolly et coll., 1974, 1979).

Nous avons donc entrepris ce travail pour étudier le développement, la structure et l'activité sécrétrice de la glande séricigène chez le ver à soie tassar tropical, *Anthraea mylitta*.

MATERIELS ET METHODES

Les cocons sans diapause provenant de la deuxième récolte du ver à soie tassar tropical trivoltin, *Anthraea mylitta* (race Daba) sont fournis au laboratoire par le Centre de Formation et de Multiplication des Graines de l'Institut Central de Formation et de Recherche Tassar, de Dawadipar, Bhandara (M.S.) en Inde. Ils sont élevés avec des plants de *Terminalia tomentosa* (Assam) et de *Terminalia arjuna* (Arjun) cultivés au centre séricicole de l'Université de Nagpur de juillet à janvier de 1994 à 1997 selon la méthode de Jolly et coll., (1979).

Techniques histologiques

La glande séricigène est disséquée chez des larves du 1^{er} au 5^{ème} âge dans une solution de Ringer et fixée immédiatement dans une solution aqueuse de Bouin, déshydratée à différents degrés

d'éthanol, nettoyée dans du xylène et enrobée dans de la paraffine à 60-62 °C. Des coupes d'une épaisseur de 4 à 6 µm sont réalisées et colorées par de l'éosine haematoxyline d'Erlich (HE) et de l'orange-G haematoxyline de fer de Heidenhain (HG).

Microscopie électronique à balayage :

L'appareil maxillo-labial-hypopharyngien est disséqué et la filière et la presse sont retirées. Les organes sont fixés sur un montant métallique à différents angles à l'aide de Fevicol, recouverts d'une couche d'or et observés avec un Microscope Electronique à Balayage Cambridge Stereoscan 250 mk III (SEM) aux agrandissements désirés au Centre Régional d'Instrumentation Sophistiquée de l'Université de Nagpur.

Estimation totale en protéines de la glande séricigène :

Les larves sont anesthésiées avec un coton imbibé de chloroforme, disséquées dans une solution de Ringer glacée, puis les glandes séricigènes sont retirées des corps de larves de 3, 6, 9, 12, 15, 18 et 21 jours. Les trachées et les tissus adhérents sont retirés et les zones médiane et postérieure des glandes séricigènes sont séparées. Les zones médiane et postérieure sont pesées avec une précision au mg (0,001) et homogénéisées pendant 3 minutes à 0 °C dans 2 ml de tampon phosphate glacé (pH=7) en utilisant un mortier. La concentration totale en protéines de la glande séricigène est estimée par la méthode de Lowry et coll., (1951) avec un spectrophotomètre (Milton et Roy USA) à 660 nm.

RESULTATS

Développement

L'appareil séricigène est bien évident dès le premier stade larvaire où il apparaît comme une structure ressemblant à un fil fin d'un blanc laiteux qui s'étend du sommet apical de l'appareil maxillo-labial-hypopharyngien jusqu'au quatrième segment abdominal. Pendant la métamorphose, l'appareil séricigène augmente progressivement en taille au cours des âges larvaires suivants et apparaît sur le côté du tube digestif dans les régions thoracique et abdominale du corps. Il est doté de nombreuses petites trachées et enrobé dans le corps gras.

La croissance progressive de l'appareil séricigène chez les larves du premier au cinquième âge est présentée dans le tableau I. Les glandes séricigènes sont différenciées en deux zones (antérieure et postérieure) jusqu'au quatrième âge et enfin en trois zones chez les larves du dernier âge : antérieure, médiane et postérieure (Figs 1 et 2). De même, les observations cytomorphologiques montrent une augmentation consécutive de la taille des noyaux, des cellules et de l'intima cuticulaire de la glande séricigène pendant le développement larvaire (Tableau II).

Histomorphologie

L'appareil séricigène se développe au maximum chez les larves du dernier âge. Chaque glande séricigène s'étend jusqu'au 8^{ème} segment abdominal. L'appareil séricigène comprend la filière apicale, la presse, deux glandes de Fillipi, un canal commun de la glande séricigène et deux glandes séricigènes entortillées (Fig 3). Chaque glande séricigène est bien différenciée en zones antérieure, médiane et postérieure. La zone postérieure de la glande séricigène (PSG) est plus grande que la zone médiane (MSG), tandis que la zone antérieure de la glande séricigène (ASG) est fine et tubulaire et plus courte que la MSG et la PSG.

La filière est une structure tubulaire cuticulaire. La région apicale en forme de cône est renflée au-dessus du prementum des lèvres et a un orifice au milieu de $70 \pm 3,5$ µm de diamètre (Figs 4 et 5).

La paroi du canal commun de la glande séricigène (CSGD) est constituée d'une fine couche d'épithélium à l'extérieur et d'une double couche cuticulaire épaisse à l'intérieur. Le CSGD a une

arête cuticulaire au milieu et un raphé (Figs 6, 7). Le raphé a une longueur de $480 \pm 20,3 \mu\text{m}$ et une largeur de $85 \pm 3,5 \mu\text{m}$. La surface intérieure du CSGD est en dents de scie (Fig 8). L'extrémité apicale du CSGD donne sur l'orifice médian de la filière.

La presse est une structure oblongue, en forme de sac qui se différencie à partir du CSGD juste derrière la filière. Elle est dotée de deux muscles hypo-pharyngiens et labiaux. La presse a une longueur de $613 \pm 13,51 \mu\text{m}$ et une largeur de $226 \pm 8,66 \mu\text{m}$ (Fig. 6).

Les glandes de Fillipi (FG) sont deux petites structures qui donnent sur le CSGD à l'intersection de l'ASG. Chaque FG se compose de grandes cellules épithéliales sphériques avec des noyaux distincts et un cytoplasme granulaire. A l'intérieur, elles sont tapissées d'une double couche d'intima épaisses (Fig. 9). La lumière est grande et remplie d'une quantité variable de matière sécrétée.

Les glandes sérícigènes se développent complètement chez les larves matures du dernier âge. Chaque glande sérícigène se différencie en zone antérieure, médiane et postérieure qui mesurent respectivement environ $9 \pm 0,6$; $30 \pm 1,7$ et $37 \pm 1,9$ cm de longueur (Fig. 3). Les glandes sérícigènes se composent typiquement d'une membrane externe acellulaire basale, d'un épithélium au milieu et d'intima cuticulaires intérieures.

La paroi de l'ASG se compose de grandes cellules épithéliales. Dans les cellules épithéliales, la région externe est remplie d'inclusions cytoplasmiques tandis que la zone interne est dépourvue d'inclusions cytoplasmiques et se caractérise par des enveloppes membraneuses. La lumière est vide avant que la sécrétion de protéines de soie ne soit apportée à partir des régions médiane et postérieure pendant la période de filage (Figs 10, 11).

La paroi de la MSG est constituée de grandes cellules épithéliales avec des noyaux au centre. L'inclusion cytoplasmique est dispersée dans tout le corps de la cellule. La matière chromatinienne est granulaire au début mais plus tard elle s'agglutine dans des corps qui se sont allongés en forme de fuseau. Les corps des cellules sont remplis d'une quantité variable d'inclusions cytoplasmiques et de quelques vacuoles et de gouttelettes sécrétrices qui sont déchargées dans la lumière pendant la période de filage (Figs 12, 13).

La paroi de la PSG se compose de grandes cellules épithéliales avec des grands noyaux ovales ou elliptiques. Les cellules épithéliales sont remplies d'une sécrétion granulaire et de gouttelettes opaques sécrétrices en nombre important dans la lumière pendant la période de filage (Figs 14, 15).

Activité cyclique

Au dernier âge les larves d'*Antheraea mylitta* subissent une nymphose après une période de 21 jours. Les glandes sérícigènes ont un développement rapide au début, puis les régions médiane et postérieure de la glande sérícigène sécrètent des protéines de soie jusqu'à la période de filage. Le filage du cocon a lieu pendant les trois derniers jours, c'est à dire du 18^{ème} au 21^{ème} jour. Les glandes sérícigènes, la MSG et la PSG surtout, subissent une dégénérescence pendant la nymphose. L'ASG ne sécrète pas tandis que la MSG et la PSG sont les zones sécrétrices de la glande sérícigène. Elles ont une activité cyclique remarquable.

La région médiane de la glande sérícigène (MSG)

Chez les larves nouvellement écloses, la MSG est constituée de grandes cellules épithéliales ($48,85 \pm 1,36 \mu\text{m}$). Les noyaux sont ovales et situés au centre, tandis que les inclusions cytoplasmiques sont dispersées dans le corps des cellules. Les cellules épithéliales augmentent progressivement en taille ($57,14 \pm 3,5 \mu\text{m}$) tout comme les noyaux et contiennent un cytoplasme dense chez les larves de six jours. Les cellules épithéliales ont un développement rapide quand les larves ont 9 jours. Les noyaux deviennent elliptiques et les cellules se remplissent d'inclusions cytoplasmiques, ce qui laisse suggérer le début de la phase de sécrétion. La matière sécrétée s'accumule dans la région distale des cellules

épithéliales et stagne près de la lumière quand les larves ont 12 jours. On peut voir la matière sécrétée dans la lumière quand les larves ont 15 jours. Chez les larves de 18 à 21 jours, la lumière de la MSG contient la matière sécrétée à la fois par la MSG et la PSG et transportée continuellement vers la filière. Dans la lumière de la MSG et de l'ASG la matière sécrétée fibreuse de la PSG se situe souvent au centre enrobée dans la matière sécrétée colloïdale de la MSG. A ce stade, les intima cuticulaires de la MSG se divisent en fines couches concentriques (Figs 16-18).

Pendant la période de filage (du 18^{ème} au 21^{ème} jour) les cellules épithéliales sont dotées de grands noyaux largement lobés et d'un amas de globules sécréteurs et régressent beaucoup après.

La zone postérieure de la glande séricigène (PSG)

Quand les larves viennent d'éclore, les cellules épithéliales forment une paroi d'une épaisseur de $53 \pm 1,16 \mu\text{m}$ dans la PSG. Les cellules contiennent de grands noyaux ovales au centre et sont remplies d'inclusions cytoplasmiques et de quelques vacuoles. Les cellules épithéliales de la PSG augmentent progressivement en taille, tout comme les noyaux et le contenu cytoplasmique. Les noyaux deviennent grands et lobés et sont densément remplis de matière chromatinienne. Les gouttelettes sécrétrices sont bien évidentes dans les corps des cellules tout comme dans la lumière de la PSG quand les larves ont 12 jours. Quand les larves ont entre 18 et 20 jours, on peut voir la fusion et l'allongement des gouttelettes sécrétrices dans la lumière (Figs. 19-21).

Alors que le processus de filage se termine le 21^{ème} jour, les cellules épithéliales de la MSG et de la PSG diminuent fortement, elles ont un grand nombre de vacuoles, une quantité négligeable d'inclusions cytoplasmiques, des noyaux fortement réduits et de la matière chromatinienne regroupée.

Concentration totale en protéines

La concentration totale en protéines de la MSG et de la PSG de l'émergence jusqu'à la fin du filage est présentée dans la fig. 22. La concentration en protéines totales dans la MSG et la PSG augmente progressivement de manière significative pendant la phase sécrétrice quand les larves ont entre 6 et 18 jours et chute brutalement chez les larves de 18 à 21 jours, pendant la période de filage.

DISCUSSION

Le développement, la structure et l'activité sécrétrice de la glande séricigène chez *A. mylitta* ont été étudiés en détail ici. Les glandes séricigènes d'*A. mylitta* sont très évidentes et apparaissent comme des structures fines semblables à des fils dès le premier âge. Jusqu'au quatrième âge, elles se différencient cependant en régions antérieure et postérieure tandis qu'au 5^{ème} âge trois régions deviennent distinctes (antérieure, médiane et postérieure). On a observé chez *Bombyx mori* comme chez d'autres vers à soie (Prudhomme et coll., 1985, Sehna et Akai, 1990) que les glandes séricigènes se différencient en trois régions – antérieure (ASG), médiane (MSG) et postérieure (PSG) qui sont respectivement les zones non-sécrétrice, sécrétrice de sériceine et sécrétrice de fibroïne. Notre étude sur *A. mylitta* montre aussi que les glandes séricigènes se différencient en trois zones, similaires à celles trouvées chez *B. mori*, mais le diamètre de la zone médiane chez *A. mylitta* est comparativement plus petit que celui de la zone postérieure et la zone médiane est entortillée alors que chez *B. mori* elle est tubulaire. Les glandes séricigènes de *A. mylitta* grossissent progressivement du premier au cinquième âge, et leur longueur et leur diamètre augmentent à l'extérieur tandis que les cellules et les noyaux grossissent intérieurement. La croissance maximum des glandes séricigènes se produit pendant le dernier âge larvaire comme chez *B. mori* (Sehna et coll., 1983). Chez les larves de *A. mylitta* le poids des deux glandes est multiplié par quarante entre la première mue et le filage, de manière très similaire à *B. mori* (Fayard, 1978). Chez *B. mori* les glandes séricigènes en pleine croissance font environ 24 cm de long et comprennent 8 % de régions ASG, 28 % de MSG et 64 % de PSG (Prudhomme et coll., 1985) tandis que les glandes séricigènes de *A. mylitta* sont plus longues

que celles de *B. mori* (environ 76 cm) et se répartissent comme suit : 11 % de zone ASG, 41 % de MSG et 48 % de PSG.

Ito (1915) a décrit la métamorphose des glandes séricigènes chez *B. mori*, tandis que d'autres chercheurs ont observé que les glandes séricigènes ont un développement endomitotique et que les cellules contiennent des noyaux polyploïdes, multilobés et un cytoplasme vacuolaire (Ono, 1951, Suzuki et Suzuki, 1974 ; Perdrix-Gillot, 1979, Akai, 1984). Avec l'activité sécrétrice, les glandes, les cellules, les noyaux multilobés la matière sécrétée et les vacuoles augmentent de manière bien évidente dans les préparations histologiques des glandes séricigènes de *A. mylitta*. Chez *B. mori* les microfibrilles de fibroïne passent par la presse et se convertissent en fil de soie très fin extrêmement long émergeant à l'extérieur par un orifice fin situé au bout de la filière (Sehnal et Akai, 1990). Chez *A. mylitta* aussi, la presse et la filière sont bien développées. Le CSGD est un long tube cuticulaire qui a un orifice apical, une arête cuticulaire, et un raphé distalement. La presse est bien développée et elle est contrôlée par deux muscles similaires à ceux de *B. mori* (Richards et Davis, 1977). La taille et l'ultrastructure de la surface de la filière, du raphé et de l'orifice apical chez *A. mylitta* sont différents de ceux de *B. mori* et semblent être liés à l'espèce. Les glandes de *Fillipi* débouchent sur la zone apicale de l'ASG chez *A. mylitta* comme chez *B. mori* et chez d'autres vers à soie (Machida, 1965 ; Waku et Sumimoto, 1974 et Sehnal et Akai, 1990).

On sait que les glandes séricigènes passent par quatre phases consécutives pendant le dernier âge des larves de lépidoptères produisant de la soie : les phases de croissance, de sécrétion, de régression et de dégénérescence, cela a aussi été observé chez *B. mori* (Tashiro et coll., 1976) et *Galleria mellonella* (Sehnal et coll., 1983 ; Sehnal et Akai, 1983). Plus tard, des études biochimiques et histologiques chez *A. mylitta*, ont révélé que les glandes séricigènes ont une phase de croissance de l'émergence jusqu'au sixième jour, une phase de sécrétion du sixième jour au dix huitième jour, c'est à dire avant le déclenchement du filage, une phase de régression du 18ème au 21ème jour et une phase de dégénérescence pendant la période pré-nymphale.

Pendant la phase de croissance de *A. mylitta*, les glandes séricigènes s'agrandissent de manière vigoureuse. La taille des noyaux et des perikarya augmente rapidement et le matériel chromatinien se concentre dans les noyaux. La phase de croissance se caractérise par une synthèse rapide et une accumulation de matériel chromatinien dans les noyaux, par des inclusions cytoplasmiques dans les cellules mais aussi par une croissance continue et une pigmentation des intimas cuticulaires similaire à celle observée chez d'autres espèces de vers à soie (Sehnal et Akai, 1990). Pendant la phase sécrétrice de *A. mylitta*, les noyaux et les perikarya de la MSG et de la PSG croissent rapidement, la matière chromatinienne est finement granulaire et se répand dans les noyaux, les perikarya contiennent des inclusions cytoplasmiques, qui s'accumulent souvent vers la lumière. La matière sécrétée est évidente dans la lumière de la PSG et de la MSG du 12^{ème} au 15^{ème} jour et plus tard la quantité de matière sécrétée augmente rapidement dans les deux glandes séricigènes. On a observé chez *B. mori* que la MSG est une zone de stockage de la fibroïne sécrétée par la PSG (Prudhomme et coll., 1985 ; Sehnal et Akai, 1990) tandis que chez *A. mylitta* la MSG comme la PSG stockent indépendamment leur sécrétion dans la lumière jusqu'au commencement du filage.

A COMPARISON OF THE HIBERNATION AND THE ACID TREATMENT OF THE SILKWORM EGGS, *BOMBYX MORI* FOR THE COCOON PRODUCTION IN TROPICS

K.-W. SOHN* & L. RAMIREZ

Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS), A.A. 733, Pereira, Risaralda, Colombia.

*The artificial hibernation and the treatment with hydrochloric acid after refrigeration of the bivoltine silkworm eggs, *Bombyx mori* were compared to evaluate the quality and productivity of cocoons in the tropical conditions, where both types of silkworm eggs are available all the year round. In this experiment six crosses of hybrids were evaluated in two rearing seasons in the year 1998 and 1999, and the results of commercial cocoon production during 1997 and 1998 in the agricultural farms of two sericultural zones in Colombia were analysed to compare two types of treatment of the silkworm eggs.*

No significant difference was presented between the artificial hibernation and the acid treatment in the economic characters, such as the larval duration, the percentage of reelable cocoons and pupation rate. However, the hibernated eggs showed a higher weight of single cocoon and cocoon shell than those treated with hydrochloric acid. This indicates that the artificial hibernation of silkworm eggs will improve the quality of commercial cocoons in the tropical conditions, without affecting the other characters. It can be concluded that the non-hibernating eggs caused by the treatment of hydrochloric acid produce cocoons with lower silk layer than the hibernated ones, even though the negative does not reach the cocoons produced by silkworms which lay non-hibernating eggs naturally.

Keywords: Silkworm eggs, *Bombyx mori*, hibernation, acid treatment.

INTRODUCTION

The occurrence of diapause in the bivoltine silkworm, *Bombyx mori* depends on the temperature and photoperiod during the incubation stage of eggs in the previous generation (Chapman, 1982). When the bivoltine silkworm eggs are incubated at 25° C with more than 12 hours of light the silkmoths lay diapausing eggs, while the eggs incubated at 15° C with less than 12 hours of light develop into silkmoths which produce non-diapausing eggs (Tazima, 1978).

Various methods have been applied to terminate the diapause of the silkworm eggs, including the physical methods of activation such as artificial hibernation, the treatment with hot water, the stimulation by friction and electric induction and the chemical methods of activation such as the treatments with hydrochloric acid, nitric acid and sulphuric acid (Aruga, 1973; Wang 1989).

Between the years of 1876-1879 the European scientists like Bolle, Verson and Quajat discovered that the hydrochloric acid was most effective for the activation of diapausing silkworm eggs (NSERI,

* To whom correspondence should be addressed. Fax: 57-63 29 99 15. E-mail cdts@pereira.multi.net.co.

1996). The practical method for activating the diapausing eggs has been established in 1913 by treating those eggs with hot solution of hydrochloric acid (Sekito *et al.*, 1979; Cifuentes & Sohn, 1998).

The bivoltine silkworm races are more favourable for the commercial production, considering the quality of cocoons and the larval resistance. The silkworm eggs hibernated or activated by acid treatment produce better quality of cocoons than those which do not enter diapause naturally (Aruga, 1973).

In the countries of the temperate zone like China, Japan and Korea, the hibernated silkworm eggs are generally utilised for the spring rearing and the eggs treated with hydrochloric acid for the rearing of summer and autumn. The results of the spring rearing in these countries are always better than those of the summer and autumn rearing, owing to the adequate climatic conditions and good quality of mulberry leaves along with less accumulation of pathogens (Lee, 1987). However, little information is available about which type of silkworm eggs between the hibernation and acid treatment is more favourable for the same season of rearing.

Considering that both types of silkworm eggs can be utilised all the year round under the tropical climatic conditions, it is necessary to verify which type of treatment of silkworm eggs is more recommendable for the commercial cocoon production. Taking advantage of climatic conditions where both types of silkworm eggs are available at the same time, this experiment was conducted to compare the effects of the hibernation and acid treatment on the quality and the production of commercial cocoons and to determine the desirable method of management of the silkworm eggs in the tropical zone.

MATERIALS AND METHODS

Utilising two Japanese lines K05 and K30 and two Chinese lines CHS and CLS of double cross hybrid "Pilamo 1", the present commercial variety in Colombia, six hybrids of three crossing types were prepared for the investigation. Among them K05 × CHS and K30 × CLS are single crosses, (K05 × K30) × CHS and (CLS × CHS) × K30 are three way crosses and (K05 × K30) × (CLS × CHS) and its reciprocal cross are double cross hybrids.

The artificial hibernation and the acid treatment of the silkworm eggs for these six hybrids were prepared for the rearing of August, 1998 and January 1999 as shown in the Table I. The hibernated eggs were preserved at a low temperature (2.5-5 °C) for 4-5 months to activate the diapause of eggs, while the hydrochloric acid was treated after refrigerating eggs at 5° C for 50-60 days.

The investigation was realised in the experimental farm "El Pilamo", the Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS), situated in Pereira, Colombia at 4° 52' 9" of North and 75° 48' 11" of West, with altitude of 1070 m above sea level and with an average precipitation of 1930 mm per year.

The figure 1 shows the maximum and the minimum temperature and the precipitation during this experiment, which were measured at the meteorological station of the Centre. During the experiment the temperature was adequate for the silkworm rearing and there was timely precipitation in the previous months of the rearing that enabled us to obtain quality of mulberry leaves.

The exterior temperature and the precipitation affected the temperature and the relative humidity in the rearing room, as presented in the Table II. The interior temperature and humidity were suitable for the silkworm rearing, which resulted in excellent quality of cocoons.

A completely randomised design was applied to the experiment with two replications of 300 silkworms after the third moult for each hybrid. After the classification of cocoons, the reelable cocoon yield per box and the percentage of pupation were calculated. Twenty five each of male and female cocoons for each replication were weighed to calculate the weight of cocoon and cocoon shell including the percentage of cocoon shell. Six characters obtained in the rearing were analysed using Student's t-test to verify the significant difference between two treatments of the silkworm eggs.

The same hybrid eggs of artificial hibernation and of acid treatment have been distributed for commercial cocoon production in Columbia, regardless of the rearing seasons. In order to compare two treatments of the silkworm eggs in the farm level, the rearing results of the hybrid "Pilamo 1" were analysed, which were obtained in the coffee cultivating zone and the department of Cauca during 11 rearings realised during 1997-1998.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Analysis of the rearing results in August - September of 1998:

Thanks to the suitable climatic conditions and good quality of mulberry leaves, the rearing results obtained in August-September of 1998 were excellent not only for the larval survival rate but for the quality of cocoons, as shown in Table III.

No significant difference was observed between the silkworm eggs of artificial hibernation and acid treatment in the economic quantitative characters, such as the hatching percentage, the larval duration, the percentage of reelable cocoons, the cocoon yield per box and single cocoon weight.

In the pupation percentage which represents the survival or resistance of the silkworms, the eggs treated with hydrochloric acid were more favourable than those hibernated, showing a difference of 5.3%. No difference was observed between both types of treatment in the reelable cocoon yield, which is determined by the percentage of pupation and of reelable cocoons and the weight of single cocoon. This indicates that both types of eggs can be utilised considering the productivity of commercial cocoons.

It is very interesting to observe a very significant difference in the weight of cocoon shell between the silkworm eggs artificially hibernated and treated with hydrochloric acid. The hibernated silkworm eggs of all hybrids which were proved in the experiment showed a higher weight of cocoon shell than those treated with hydrochloric acid, with an average difference of 0.25 gram per cocoon.

Table I. Program of treatments of the silkworm eggs for this investigation.

Tableau I. Programme de traitement des oeufs de vers à soie pour cette étude.

Rearing	Treatment	Laying eggs	Refrigeration of eggs	Incubation	Hatching
<i>Elevage</i>	<i>Traitement</i>	<i>Ponte des oeufs</i>	<i>Réfrigération des oeufs</i>		<i>Ecllosion</i>
No. 1	Hibernation	26 .02.1998	25.03.1998	06.08.1998	21.08.1998
	Acid treatment <i>Traitement à l'acide</i>	12.06.1998	14.06.1998	06.08.1998	19.08.1998
No. 2.	Hibernation	12.06.1998	05.08.1998	13.01.1999	26.01.1999
	Acid treatment <i>Traitement à l'acide</i>	08.11.1998	10.11.1998	15.01.1999	26.01.1999

Table II. Temperature and humidity in the silkworm rearing room.

Tableau II. Température et humidité dans la pièce d'élevage des vers à soie.

Rearing	Maximum temp. (° C)	Minimum temp (° C)	Average temp. (° C)	Relative humidity (%)	Period
Elevage	Temp. maximum (° C)	Temp. minimum (° C)	Température moyenne (° C)	Humidité relative (%)	Période
No. 1	28.0	22.5	25.0	84.8	19.08.-14.09.1998
No. 2	28.5	21.5	24.3	84.3	25.01- 20.02.1999

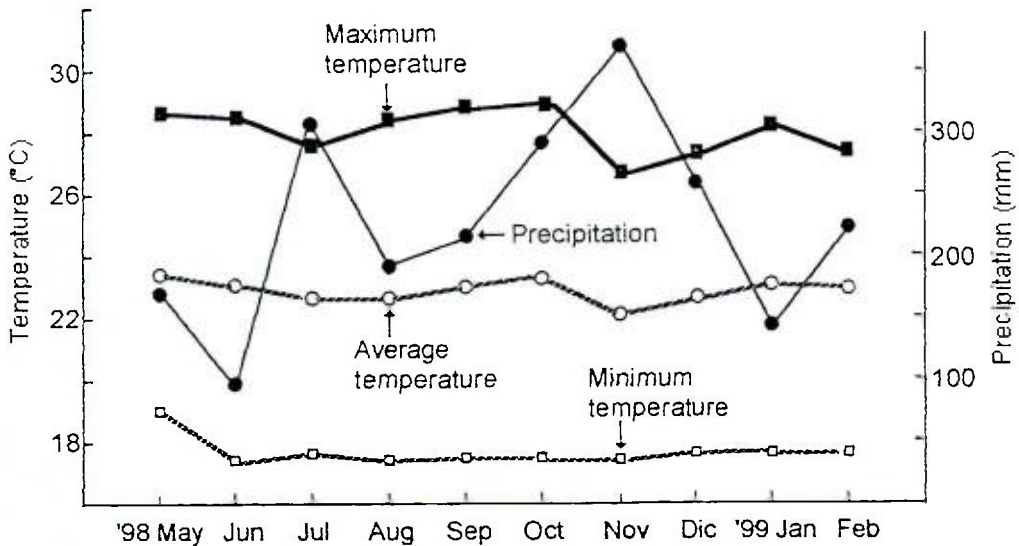


Fig. 1. Exterior temperature and precipitation during silkworm rearing.

Fig. 1. Température extérieure et précipitations pendant l'élevage des vers à soie.

Table III. Comparison of the rearing results between silkworm eggs hibernated and treated with hydrochloric acid in the rearing of Aug.- Sep. of 1998.

Tableau III. Comparaison des résultats d'élevage entre les oeufs de vers à soie qui hibernent et ceux traités avec de l'acide chlorhydrique pendant l'élevage d'août-sept. 1998.

Hybrid	Treatment	% of hatching	Larval duration (Day. Hr)	% of pupation	% good cocoon	Cocoon yield (kg/box)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell wt. (cg)	% of cocoon shell
Hybride	Traitement	% d'éclosion	Durée larvaire (Jour - Heure)	% de nymphe	% de bons cocons	Rendement en cocons (kg/boite)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (cg)	Richesse soyeuse (%)
K30 × CLS	Hib.	96.2	23.05	85.3	79.0	36.1	2.43	56.8	23.4
	T.A.	95.1	23.04	94.3	81.2	38.8	2.45	54.9	22.4
CHS × K05	Hib.	98.0	23.05	86.0	81.0	34.9	2.34	53.5	22.9
	T.A.	96.5	23.04	90.5	80.0	34.7	2.31	50.4	21.8
530 × CHS	Hib.	97.9	23.05	86.7	72.9	33.6	2.38	54.5	22.9
	T.A.	96.2	23.05	94.3	82.5	36.8	2.31	51.6	22.3
LH × K30	Hib.	97.8	23.05	90.3	79.1	36.3	2.37	55.2	23.3
	T.A.	96.3	23.04	92.3	83.9	37.7	2.36	51.9	22.0
530 × LH	Hib.	97.2	23.05	91.3	82.5	36.8	2.38	54.0	22.7
	T.A.	96.9	23.04	92.5	78.4	35.9	2.38	53.9	22.7
Lh × 530	Hib.	97.5	23.05	84.2	79.4	34.6	2.43	55.3	22.8
	T.A.	97.4	23.05	92.0	79.8	35.3	2.31	51.7	22.4
Average total Moyenne totale	Hib.	97.4	23.05	87.3	79.0	35.4	2.39	54.9	23.0
	T.A.	96.4	23.04	92.7	81.0	36.5	2.35	52.4	22.3
Difference	(Hib-TA)	1.0*	0.01 ^{NS}	-5.4*	-2.0 ^{NS}	-1.1 ^{NS}	0.04 ^{NS}	2.5**	0.7*

The marks * and ** correspond to the significant difference at the level of 5% and 1% respectively. 530: K05×K30, LH:CLS × CHS. / Les notes * et ** correspondent à une différence significative au seuil respectivement de 5 % et 1 %. 530 : K05 × K30, LH: CLS × CHS.

NS: No significant / Non significatif.

Hib. Hibernated eggs / Oeufs hibernés.

T.A.: Eggs treated with hydrochloric acid / Oeufs traités avec de l'acide chlorhydrique

These abbreviations are applied for the following tables / Ces abréviations s'appliquent aux tableaux suivants.

Table IV. Comparison of the characters between the silkworm eggs hibernated and treated with hydrochloric acid in the rearing of Jan.-Feb. 1999*Tableau IV. Comparaison des caractères entre les oeufs de vers à soie qui hibernent et ceux traités avec de l'acide chlorhydrique pendant l'élevage de janvier- février 1999.*

Hybrid	Treatment	% of hatching	Larval duration (Day, Hr)	% of pupation	% good cocoon	Cocoon yield (kg/box)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell wt. (cg)	% of cocoon shell
<i>Hybride</i>	<i>Traitement</i>	<i>% d'éclosion</i>	<i>Durée larvaire (Jour, Hre)</i>	<i>% de nymphose</i>	<i>% de bons cocons</i>	<i>Rendement en cocons (kg/boite)</i>	<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Poids de la coque (cg)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>
K30 × CLS	Hib.	96.9	23.23	90.7	82.9	38.6	2.50	58.1	23.2
	T.A.	90.8	23.23	90.2	80.6	36.2	2.34	52.5	22.5
CHS × KO5	Hib.	96.0	23.23	89.5	78.7	37.1	2.54	56.5	22.3
	T.A.	77.0	23.23	91.5	79.1	34.8	2.21	48.2	21.8
530 × CHS 305 × CHS	Hib.	99.1	23.23	86.5	75.3	34.2	2.42	55.0	22.7
	T.A.	85.0	23.23	90.2	76.5	35.8	2.44	54.3	22.3
LH × K30	Hib.	98.1	23.23	89.5	83.1	38.9	2.54	58.1	22.9
	T.A.	83.9	23.23	91.8	78.4	36.0	2.37	52.7	22.2
530 × LH 305 × LH	Hib.	98.0	23.23	89.2	79.0	37.9	2.58	58.6	22.8
	T.A.	81.9	23.23	85.0	75.6	34.1	2.37	54.0	22.8
LH × 530 LH × 305	Hib.	98.2	23.23	91.0	82.4	38.1	2.50	57.2	22.9
	T.A.	85.7	23.23	85.7	73.3	33.3	2.38	53.6	22.5
Average <i>Moyenne</i>	Hib.	97.7	23.23	89.4	80.2	37.5	2.51	57.2	22.8
	T.A.	84.1	23.23	89.1	77.2	35.0	2.35	52.6	22.3
Difference	(Hib-TA)	13.6**	0.00 ^{NS}	0.3 ^{NS}	3.0 ^{NS}	2.5*	0.16*	0.47**	0.4**

* The marks * and ** correspond to the significant difference at the level of 5% and 1% respectively. 530; K05×K30, 305; K30×K05, LH; CLS×CHS. / Les notes * et ** correspondent à une différence significative au seuil de 5 % et de 1 % respectivement. 530; K05 × K30, 305 ; K30 × K05, LH ; CLS × CHS.

The hibernated eggs presented a higher percentage of cocoon shell than those treated with acid, with an average difference of 0.7%. This character is a relation between the weight of cocoon and cocoon shell, in which the cocoon shell weight showed very significant difference, while the cocoon weight did not present a significant difference.

2. Analysis of the rearing results in the January-February of 1999:

The Table IV shows the rearing results of the hibernated eggs and of those treated with hydrochloric acid during January and February of 1999. The hatching rate of the silkworm eggs treated with acid was not good, due to over stimulation by acid, therefore it is not reasonable to compare with those hibernated. The low percentage of hatching does not implicate low resistance of the silkworms, observing that there was no significant difference between two types of treatments in the percentage of pupation and in the larval duration.

No significant difference was observed between two treatments of silkworm eggs in the percentage of reelable cocoons. The hibernated eggs presented more production of reelable cocoons than those treated with hydrochloric acid, owing to higher weight of a cocoon. It is not clear whether the low percentage of hatched eggs treated with hydrochloric acid affected the cocoon weight.

The two rearing showed the same results in the weight and the percentage of cocoon shell, in which hibernated eggs exhibited higher value than the eggs treated with hydrochloric acid. In these two important quantitative characters that represent the quality of cocoons, the hibernated eggs of six hybrids were equal or superior to those treated with hydrochloric acid.

In the countries of temperate zone like Japan and Korea, the hibernated eggs are utilised for the spring rearing and those treated with hydrochloric acid for the autumn rearing. In Japan the average weight of a cocoon and the percentage of raw silk are 1.96 g and 19.1% for the spring rearing, while 1.84 g and 18.5 % for the autumn rearing (Fukuda, 1979). In South Korea the percentage of raw silk in the spring rearing is 1% higher than that of autumn rearing (Sohn *et al.*, 1989).

Table V. Comparison between the silkworm eggs of hibernation and acid treatment for the commercial cocoon production.

Tableau V. Comparaison entre les oeufs de vers à soie qui hibernent et ceux traités à l'acide pour la production commerciale de cocons.

Zone	Treated eggs	No. of boxes	Cocoon yield (kg/box)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell wt (cg)	% of cocoon shell	Rearing rate (%)	Cocoon quality (point)	Raw income (peso / kg)
Zone	Oeufs traités	Nbre de boîtes	Rendement en cocons (kg/boîte)	Poids du cocoon (g)	Poids de la coque (cg)	Richesse soyeuse (%)	Taux d'élevage (%)	Qualité du cocon (note)	Revenu brut (peso / kg)
Coffee zone Zone de café	Hib.	437	34.39	2.02	44.28	21.92	85.18	86.00	3,851
	T.A.	545	34.44	1.89	41.04	21.74	91.13	83.50	3,490
Depart. Cauca	Hib.	143	32.83	2.05	41.48	20.18	80.10	77.40	3,657
	T.A.	149	33.83	1.98	40.59	20.50	85.45	78.60	3,471

* **Hib.:** Hibernated eggs / Oeufs hibernés . **T.A. :** Treatment with hydrochloric acid. / Traitement avec l'acide chlorhydrique.

Rearing rate (%) was calculated by (cocoon yield per box / cocoon weight). / Le taux d'élevage (%) est calculé d'après (le rendement en cocon par boîte / le poids du cocon).

The difference in the rearing results between two rearing seasons in the temperate countries is explained by the reason that the spring rearing has better quality of mulberry and climatic condition with less accumulation of pathogens. Considering the results of this experiment, the hibernated eggs which are utilised always in the spring rearing could be another favourable factor for the good rearing results, compared to the autumn rearing for which the acid treatment is practised.

3. Comparison between the silkworm eggs of hibernation and acid treatment for the commercial cocoon production:

In order to compare the rearing of the silkworm eggs of hibernation and of treatment with hydrochloric acid in the commercial cocoon production, the Table V shows the summary results of commercial hybrid "Pilamo 1", which was reared in the coffee cultivating zone and in the department of Cauca in Colombia during the years of 1997 and 1998. Even if the results were not obtained in the same rearing season because the hibernated eggs or those treated with hydrochloric acid have been utilised separately for each commercial rearing, the average results of 11 rearings with more than 500 boxes of silkworms can give us a general tendency of two treatments of the silkworm eggs.

The hibernated eggs presented a higher weight of cocoon and of cocoon shell than the eggs treated with hydrochloric acid in both sericultural zones in Columbia, which is coincident with the results of six hybrids investigated twice at the experimental farm "El Pilamo".

In those times when the method of the treatment with hydrochloric acid was not established, the hibernated eggs from the previous year, the non-diapausing eggs which were induced by the incubation of low temperature or the eggs artificially hibernated, were utilised for the summer-autumn rearing in the sericultural countries of the temperate zone. These technologies contributed to rear more silkworms in the summer-autumn rearing, but those eggs presented unstable hatching of eggs and low cocoon production with low quality (Sekito *et al.*, 1979).

The development of technology on the treatment of the silkworm eggs with hydrochloric acid resolved those problems and promoted notably the sericultural production through the supply of the eggs all year round. It has been believed that the silkworm eggs treated with hydrochloric acid do not change the characteristics of cocoon quality that hibernating eggs conserve (Takami, 1969). However, no report has been made to compare directly the normally hibernated eggs with those treated with hydrochloric acid at the same rearing season.

It was reported that no significant difference was observed in the results of the summer rearing, between the eggs treated immediately with hydrochloric acid and the eggs hibernated for long period since the spring of previous year (Yamasaki, 1969). However, it is considered that those hibernated eggs for more than one year may present negative effect to the cocoon quality, due to longer refrigeration than the ordinary hibernation. The same author informed that the hibernated eggs which were produced in the previous autumn showed 3% higher hatching rate than the ones hibernated since the spring of the previous year, admitting the negative effect due to longer refrigeration of eggs.

It can be concluded that the non-hibernating caused by the treatment of hydrochloric acid produce the cocoons with lower silk layer than the hibernated ones, even though the negative effect does not reach the cocoons produced by silkworms which lay non-hibernating eggs naturally.

REFERENCES

- ARUGA H. (1973) Summary of sericulture. Yokendo, Tokyo. p.353 (in Japanese)
 CIFUENTES C.A. & SOHN K.W. (1998) Technical manual of sericulture - Mulberry cultivation and silkworm rearing in the tropics. SENA-CDTS. Pereira. p 438.
 CHAPMAN R.F. (1982) The insects-structure and function. Third ed. Hodder and Stoughton p. 919.
 FUKUDA K. (1979) Integral science of sericulture. Jap. Soc. Seric. Tolyo. p 446.
 LEE S.P. *et al.* (1987) The present situation and the tendency of breeding of silkworm variety in Korea. Kor. Soc. Breed 17(3):295-305.

- NSERI (1996) Investigation of silkworm varieties for 35 years. Nat'l Seri. & Entom. Res. Inst. Rural. Devel. Adm., South Korea. p. 413.
- SEKITO, TOTALINI & HORIUCHI (1979) Description of bibliographies on the breeding technology of silkworm. Seri. Expn. Sta. Japan. p. 235.
- SOHN K. W. et al. (1989) New technology and management of sericulture. Rural Devel. Adm., South Korea. p. 44 (in Korean).
- TAKAMI K. (1969) Integral theory of the silkworm eggs. Japan Assoc. Silkworm Eggs. Tokyo. p.375.
- TAZIMA Y. (1978) The silkworm: an important laboratory tool. Kodansha, Tokyo. p. 307.
- WANG S.M. (1989) Silkworm egg production. FAO. Agricultural Services Bulletin. 73/3. p. 64.
- YAMASAKI (1969) Problems in the production of silkworm eggs for the summer rearing. Sericult. Sci. & Tech. 8(5): 72-75.

COMPARAISON ENTRE L'HIBERNATION ET LE TRAITEMENT A L'ACIDE POUR LES ŒUFS DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* DESTINES A LA PRODUCTION DE COCONS EN ZONE TROPICALE

K. W. SOHN* & L. RAMIREZ

Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS), A. A. 733, Pereira, Risaralda,
Colombie.

*Nous avons comparé l'hibernation artificielle et le traitement à l'acide chlorhydrique après réfrigération des œufs de vers à soie bivoltins de **Bombyx mori** pour évaluer la qualité et la productivité des cocons dans les conditions tropicales, où les deux types d'œufs de ver à soie sont disponibles pendant toute l'année. Dans cette expérience, nous avons évalué six croisements hybrides pendant deux saisons d'élevage en 1998 et en 1999, et nous avons analysé les résultats de la production commerciale dans les magnaneries de deux zones séréricoles en Colombie en 1997 et 1998 pour comparer les deux types de traitement des œufs.*

Il n'existe aucune différence significative entre l'hibernation artificielle et le traitement à l'acide en ce qui concerne les caractères économiques, tels que la durée larvaire, le pourcentage de cocons dévidables et le taux de nymphose. Cependant, les œufs qui hibernent ont un poids de cocon et de coque plus élevés que ceux traités à l'acide chlorhydrique. Cela indique que l'hibernation artificielle des œufs de vers à soie améliore la qualité des cocons destinés à la production commerciale dans les conditions tropicales, sans affecter les autres caractères. On peut en conclure que les œufs qui n'hibernent pas à cause du traitement à l'acide donnent des cocons dont la richesse soyeuse est moins importante que celle de ceux qui hibernent, même si cet aspect négatif ne touche pas les cocons produits par les vers à soie qui pondent naturellement des œufs qui n'hibernent pas.

INTRODUCTION

La diapause du ver à soie bivoltin, *Bombyx mori* dépend de la température et de la photopériode pendant la période d'incubation des œufs de la génération précédente (Chapman, 1982). Quand les œufs de vers à soie bivoltins sont incubés à 25° C avec plus de 12 heures de lumière, les papillons pondent des œufs à diapause, tandis que les œufs incubés à 15° C avec moins de 12 heures de lumière deviennent des papillons dont les œufs sont sans diapause (Tazima, 1978).

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour achever la diapause des œufs de vers à soie, on compte parmi elles des méthodes d'activation physique telles que l'hibernation artificielle, le traitement avec de l'eau chaude, la stimulation par friction, ou induction électrique et les méthodes d'activation chimique comme les traitements avec de l'acide chlorhydrique, ou de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique (Aruga, 1973 ; Wang 1989).

Entre 1876 et 1979, des chercheurs européens comme Bolle, Verson et Quajat ont découvert que l'acide chlorhydrique était très efficace pour activer les œufs de vers à soie en diapause (NSERI,

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée : Fax : 57-63 29 99 15. E-mail cdts@pereira.multi.nct.co

1996). La méthode pratique d'activation des œufs en diapause a été conçue en 1913 en traitant les œufs avec une solution d'acide chlorhydrique chaude (Sekito et coll., 1979 ; Cifuentes & Sohn, 1998). Les races de vers à soie bivoltines conviennent mieux à la production commerciale, compte tenu de leur qualité de cocon et de leur résistance larvaire. Les œufs de vers à soie qui hibernent ou qui sont activés par le traitement à l'acide donnent des cocons de meilleure qualité que ceux qui n'entrent pas en diapause naturellement (Aruga, 1973).

Dans les pays de la zone tempérée comme la Chine, le Japon et la Corée, les œufs de vers à soie qui hibernent sont en général utilisés pour l'élevage du printemps et les œufs traités avec de l'acide chlorhydrique pour l'élevage de l'été et de l'automne. Les résultats de l'élevage de printemps dans ces pays sont toujours meilleurs que ceux des élevages d'été et d'automne, parce que les conditions climatiques sont adéquates, les feuilles de mûrier de bonne qualité et qu'il y a moins de pathogènes (Lee, 1987). Cependant, il existe peu d'information sur le type d'œufs de vers à soie qui conviennent le mieux pour la même saison d'élevage, entre ceux qui hibernent et ceux qui sont traités à l'acide.

Comme ces deux types d'œufs de vers à soie peuvent être utilisés toute l'année dans des conditions climatiques tropicales, il est nécessaire de vérifier quel type de traitement des œufs est recommandé pour la production commerciale de cocons. Cette expérience a été réalisée, dans les conditions climatiques où les deux types d'œufs de vers à soie sont disponibles en même temps, pour comparer les effets de l'hibernation et du traitement avec de l'acide sur la qualité et la production commerciale de cocons et pour déterminer le traitement préférable pour les œufs de vers à soie en zone tropicale.

MATERIELS ET METHODES

Six hybrides provenant de trois types de croisements ont été préparés pour cette étude, en utilisant deux lignées japonaises K05 et K30 et deux lignées chinoises CHS et CLS de l'hybride de croisement double " Pilamo 1 ", la variété utilisée commercialement actuellement en Colombie. Parmi eux K05 × CHS et K30 × CLS sont des croisements simples, (K05 × K30) × CHS et (CLS × CHS) × K30 sont des croisements triples et (K05 × K30) × (CLS × CHS) et son croisement réciproque sont des hybrides doubles.

L'hibernation artificielle et le traitement avec de l'acide ont été utilisés avec les œufs de ces six hybrides pendant l'élevage d'août 1998 et de janvier 1999, comme le montre le Tableau I. Les œufs qui hibernent sont conservés à basse température (2,5 - 5° C) pendant 4 à 5 mois pour activer la diapause des œufs, tandis que le traitement avec de l'acide est employé après la réfrigération des œufs à 5°C pendant 50 à 60 jours.

L'étude est réalisée dans la magnanerie expérimentale d'" El Pilamo ", du Centre de Développement Technologique pour la Sériciculture (CDTS), de Pereira, en Colombie à 4° 52' 9" de latitude Nord et 75° 48' 11 " de longitude Ouest, à une altitude de 1070 m et avec une moyenne de précipitations de 1930 mm par an.

La figure 1 montre les températures maximums et minimums et les précipitations pendant l'expérience, mesurées à la station météorologique du Centre. Pendant l'expérience la température était appropriée pour l'élevage des vers à soie et des précipitations ont eu lieu à temps pendant les mois précédant l'élevage, ce qui a permis d'obtenir des feuilles de mûrier de qualité.

La température extérieure et les précipitations ont un effet sur la température et l'humidité relative de la pièce d'élevage, comme le montre le Tableau II. La température intérieure et l'humidité conviennent à l'élevage des vers à soie, ce qui donne des cocons d'excellente qualité.

L'expérience a été réalisée de manière aléatoire avec deux répétitions de 300 vers à soie après la troisième mue pour chaque hybride. Après la classification des cocons, on calcule le rendement en cocons dévidables par boîte et le pourcentage de nymphose. Vingt cinq cocons mâles et vingt cinq cocons femelles sont pesés pour chaque répétition pour calculer le poids du cocon et de la coque et la richesse soyeuse. On analyse six caractères en utilisant le test-t de Student pour vérifier la différence significative entre les deux traitements des œufs.

Les mêmes œufs hybrides (provenant de l'hibernation artificielle ou du traitement avec de l'acide) ont été distribués pour la production commerciale de cocons en Colombie, sans tenir compte des saisons d'élevage. Pour comparer les deux traitements des œufs sur le terrain, on a analysé les résultats d'élevage de l'hybride "Pilamo 1", obtenus dans la zone de culture du café et dans le département de Cauca au cours de 11 élevages réalisés entre 1997 et 1998.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyse des résultats de l'élevage d'août-septembre 1998 :

Grâce aux conditions climatiques adaptées et à la bonne qualité des feuilles de mûrier, les résultats d'élevage obtenus en août – septembre 1998 sont excellents non seulement pour le taux de survie larvaire mais aussi pour la qualité des cocons, comme le montre le Tableau III.

On n'observe pas de différence significative entre les œufs de vers à soie provenant de l'hibernation artificielle et ceux provenant du traitement avec de l'acide pour les caractères quantitatifs économiques, tels que le pourcentage d'éclosion, la durée larvaire, le pourcentage de cocons dévidables, le rendement en cocons par boîte et le poids du cocon.

Pour le pourcentage de nymphose, qui représente la survie ou la résistance des vers, les œufs traités avec de l'acide chlorhydrique donnent de meilleurs résultats que ceux qui hibernent, avec une différence de 5,3 %. On n'observe pas de différence entre les deux traitements pour le rendement en cocons dévidables, qui est déterminé par le pourcentage de nymphose, par le pourcentage de cocons dévidables et par le poids du cocon. Ceci indique que les deux types d'œufs peuvent être utilisés compte tenu de la productivité nécessaire pour la production commerciale de cocons.

Il est très intéressant d'observer une différence très significative pour le poids de la coque entre les œufs qui hibernent artificiellement et ceux traités avec de l'acide chlorhydrique. Sur tous les hybrides essayés, les œufs de vers à soie qui hibernent ont un poids de coque plus élevé que ceux qui sont traités avec de l'acide chlorhydrique, avec une différence moyenne de 0,25 grammes par cocon.

Les œufs qui hibernent ont une richesse soyeuse plus élevée que ceux traités avec de l'acide, avec une différence moyenne de 0,7 %. Ce caractère est une relation entre le poids du cocon et le poids de la coque, il existe une différence très significative pour le poids de la coque, tandis que le poids du cocon ne présente pas une différence significative.

2. Analyse des résultats de l'élevage de janvier – février 1999 :

Le tableau IV montre les résultats d'élevage des œufs qui hibernent et de ceux qui sont traités avec de l'acide chlorhydrique de janvier à février 1999. Le taux d'éclosion des œufs de vers à soie traités avec de l'acide n'est pas bon, à cause d'une sur-stimulation par l'acide, il n'est donc pas raisonnable de les comparer avec ceux qui hibernent. Le faible pourcentage d'éclosion ne signifie pas que la résistance des vers soit faible, puisqu'il n'y a pas de différence significative entre les deux types de traitements en terme de pourcentage de nymphose et de durée larvaire.

Il n'existe pas de différence significative entre les deux traitements pour le pourcentage de cocons dévidables. Les œufs qui hibernent donnent une production de cocons dévidables plus importante que ceux traités avec de l'acide chlorhydrique, à cause du poids plus élevé du cocon. Il n'est pas établi que le faible taux d'éclosion des œufs traités avec de l'acide chlorhydrique a un effet sur le poids du cocon.

Les deux élevages donnent les mêmes résultats pour le poids de la coque et pour la richesse soyeuse, les œufs qui hibernent ayant une valeur plus élevée que ceux traités avec de l'acide. Pour ces deux caractères quantitatifs importants qui représentent la qualité des cocons, les œufs de six hybrides qui hibernent sont égaux ou supérieurs à ceux traités avec de l'acide chlorhydrique.

Dans les pays de la zone tempérée comme le Japon et la Corée, les œufs qui hibernent sont utilisés pour l'élevage du printemps et ceux qui sont traités avec de l'acide chlorhydrique pour l'élevage d'automne. Au Japon, le poids moyen d'un cocon et le pourcentage de soie grège sont de 1,96 g et de

19,1 % pour l'élevage de printemps, tandis qu'ils sont de 1,84 g et de 18,5 % pour l'élevage d'automne (Fukuda, 1979). En Corée du Sud, le pourcentage de soie grège pour l'élevage du printemps est plus élevé de 1 % par rapport à celui d'automne (Sohn et coll., 1989).

Les résultats d'élevage sont différents entre les deux saisons dans les pays tempérés parce qu'au printemps les mûriers sont de meilleure qualité, les conditions climatiques meilleures et qu'il y a moins de pathogènes. Compte tenu des résultats de notre expérience, l'utilisation systématique d'œufs qui hibernent pendant l'élevage de printemps pourrait être un des facteurs favorisant les bons résultats d'élevage, par rapport à l'élevage d'automne pendant lequel le traitement à l'acide est utilisé.

3. Comparaison entre les œufs de vers à soie qui hibernent et ceux traités avec de l'acide pour la production commerciale de cocons :

Le Tableau V montre le résumé des résultats de l'hybride commercial " Pilamo 1 ", élevé dans la zone de culture du café et dans le département de Cauca en Colombie pendant les années 1997 et 1998, ce qui permet de comparer l'élevage des œufs de vers à soie qui hibernent et l'élevage des œufs traités avec de l'acide chlorhydrique pour la production commerciale de cocons. Même si les résultats ne sont pas obtenus pour la même saison d'élevage (puisque les œufs qui hibernent ou ceux qui sont traités avec de l'acide chlorhydrique ont été utilisés séparément pour chaque élevage commercial), les résultats moyens de 11 élevages avec plus de 500 boîtes de vers à soie peuvent donner la tendance générale pour les deux traitements des œufs.

Les œufs qui hibernent ont un poids de cocon et de coque plus élevé que les œufs traités avec de l'acide chlorhydrique dans les deux zones sérícicoles en Colombie, ce qui coïncide avec les résultats obtenus pour six hybrides étudiés deux fois dans la ferme expérimentale " d'El Pilamo ".

A l'époque où la méthode de traitement à l'acide chlorhydrique n'existait pas, les œufs de l'année précédente qui hibernaient, les œufs sans diapause qui étaient induits par l'incubation à basse température ou les œufs qui hibernaient artificiellement, étaient utilisés pour l'élevage de l'été-automne dans les pays sérícicoles de la zone tempérée. Ces technologies permettaient d'élever plus de vers à soie pendant l'élevage de l'été-automne, mais ces œufs avaient une éclosion instable et une production de cocons peu élevée et de mauvaise qualité (Sekito et coll., 1979).

La mise au point de la technique de traitement des œufs à l'acide chlorhydrique a résolu ces problèmes et a considérablement accru la production sérícicole en permettant de disposer d'œufs pendant toute l'année. On pensait que le traitement des œufs de vers à soie à l'acide chlorhydrique ne changeait pas la qualité du cocon, que conservent les œufs qui hibernent (Takami, 1969). Cependant, aucun rapport n'existe sur la comparaison directe entre les œufs qui hibernent normalement et ceux qui sont traités avec de l'acide chlorhydrique pendant la même saison.

Il n'existe pas de différence significative pour les résultats d'élevage en été, entre les œufs traités immédiatement avec de l'acide chlorhydrique et les œufs qui hibernent pendant longtemps depuis le printemps de l'année précédente (Yamasaki, 1969). Cependant, on considère que l'hibernation des œufs pendant plus d'un an a peut être un effet négatif sur la qualité du cocon, car la réfrigération est plus longue par rapport à l'hibernation ordinaire. Le même auteur signale que les œufs pondus l'automne précédent qui hibernent ont un taux d'éclosion plus élevé de 3 % par rapport aux œufs qui hibernent depuis le printemps de l'année précédente, et admet l'effet négatif d'une réfrigération prolongée des œufs.

On peut donc conclure que l'absence d'hibernation due au traitement à l'acide chlorhydrique donne des cocons dont la richesse soyeuse est moins importante que celle des œufs qui hibernent, mais cet effet négatif ne touche pas les cocons produits par des vers à soie qui pondent naturellement des œufs qui n'hibernent pas.

**BIO EFFICACY OF CUSTARD APPLE (*ANNONA SQUAMOSA*)
FORMULATIONS AGAINST MULBERRY PEST, BIHAR HAIRY
CATERPILLAR (*SPILOSOMA OBLIQUA*, WALKER) AND
MULBERRY SILKWORM, (*BOMBYX MORI* LINN)**

**G.V. RAMAN, M. SRINIVASA RAO, G. SRIMANNARAYANA* &
B. VENKATESWARLU**

Central Research Institute for Dryland Agriculture (CRIDA), Santoshnagar, Hyderabad,
India – 500 059.

*Laboratory evaluation of custard apple (*Annona squamosa*) formulations was shown to be very effective against mulberry pest, Bihar hairy caterpillar (*Spilosoma obliqua*). Annona oil based formulations were proved to be the best antifeedants followed by Annona seed extracts and leaf based formulations. All these botanicals were compared with Neem pesticide. The antifeedant effect of Annona products was more on silkworm as compared to Bihar hairy caterpillar at same concentration. However the residual toxicity to silkworm lasted only up to 10-13 days after which the worms fed on treated mulberry leaves normally. These results indicate that Annona extracts have a potential to be used as insecticides for control of mulberry pests without affecting the silkworm if proper waiting period is followed for leaf harvesting.*

Keywords: *Spilosoma obliqua*, botanicals, mulberry, *Annona squamosa*, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

India is the second largest producer of raw silk in the world. However, the average yields are low and there are concerns on quality. Undoubtedly, feed is an important factor influencing the quality and quantity of raw silk production. Pests and diseases are one of the major constraints in mulberry production, which is the primary food source for the silkworm, *Bombyx mori* (L.). Bihar hairy caterpillar (*Spilosoma obliqua*, Walker) is one such serious pest on mulberry in India. It is polyphagous, voracious and highly destructive. Use of synthetic pesticides cause environmental pollution, development of resistance in insects and health hazards to human beings. Moreover mulberry silkworm is also sensitive to chemical residue problems. Therefore a number of non-pesticidal approaches of pest management are being tried in India in recent times including bio-pesticides and cultural management.

Botanicals are increasingly used as a part of the Integrated Pest Management (IPM) modules for field crops. In sericulture, botanicals are more appropriate due to their relatively higher environmental safety. These are easily biodegradable and residual toxicity is minimum compared to synthetics. Neem based pesticides are one such group of botanicals already become popular in IPM (Schmutterer 1984 and 1990). Custard apple (*Annona squamosa*) is yet another source of botanical pesticides, which has a good potential. The insecticidal activity of custard apple compounds i.e. acetogenins is well documented (Rupprecht *et al.*, 1990). So far nearly twenty acetogenins were isolated from custard

* Department of Chemistry, Osmania University, Hyderabad, India – 500 007.

apple. These are characterised as novel dihydroxy-bis-tetrahydrofuran fatty acid lactone containing 30 carbon atoms. These compounds exhibit cytotoxic, anti tumour, anti microbial, antifeedant and insecticidal activities (Kawazu *et al.*, 1989). Crude custard apple extracts were successfully tested for their antifeedant and insecticidal activities against pests of rice (Marippan and Saxena 1982 and 1984) pests of castor (Srinivasa Rao *et al.*, 1996) and cotton (Srinivasa Rao *et al.*, 1999). In the present study the antifeedant activity of different *Annona* extracts were tested against Bihar hairy caterpillar under laboratory conditions. Since the botanicals could also affect the silkworm, the antifeedant test was carried out for mulberry silkworm also under similar conditions. Residual toxicity of *Annona* botanicals against silkworm was also found out after spraying on mulberry crop.

MATERIALS AND METHODS

The custard apple extracts were prepared and made into emulsifiable concentrates at the Department of Chemistry, Osmania University, Hyderabad, India. In total six custard apple extracts and formulations were prepared from leaf, seed and seed oil. *Annona* leaf aqueous extract 25% and *Annona* leaf methanol extract 11.25 EC were taken from leaf, *Annona* seed methanol extract 14 EC and *Annona* seed powder aqueous extracts were taken from seed and Annonol 92 EC and *Annona* oil concentrate 14 EC were prepared from custard apple seed oil. One Neem formulation Neem EX 17.5 EC was also prepared for comparison (Table 1).

Laboratory Bio-assay (Antifeedant activity):

The antifeedant test was carried out by the non-choice method using mulberry leaves. Third instar larvae of Bihar hairy caterpillar of uniform size were used for the bioassay. Before treatment, the area of individual mulberry leaf was measured by a leaf area meter. All the formulations were diluted to two doses, 5 ml/l, and 10ml/l, whereas seed powder was prepared as 25g/l and 50 g/l. Leaves were dipped in the respective concentrations for about a minute and air-dried. The leaf petiole was tied with wet cotton plugs to maintain the freshness. One single leaf was placed in a jar containing single third instar pre-starved larva. In each treatment 10 such jars were maintained and each treatment was replicated three times. The area of the leaf after 48 h of treatment was measured and the percentage of leaf area protected due to treatment was calculated. The same procedure was followed for silkworm bioassay. Here too, third instar silkworm was kept in the experimental jars.

Residual toxicity:

The formulations which were evaluated for antifeedancy against Bihar hairy caterpillar and silkworm were also studied for the residual toxicity against silkworm. All the formulations were sprayed on healthy mulberry trees in the field. Each treatment was applied on 10 labelled mulberry trees. After treatment, the antifeedancy test was carried out in a similar way to the laboratory bioassay on 4th, 7th, 10th and 13th day. The leaf area consumed by silkworms was measured and calculated after 24 h of exposure to the treated leaf.

The percentage of antifeedant activity was calculated according to Panth and Singh (1980). The data generated from the laboratory bioassay and residual toxicity studies were transformed into arcsin values and analysed for analysis of variance.

RESULTS AND DISCUSSION

Laboratory bio-assay (antifeedant activity):

All the botanical formulations were found superior to untreated control. Among *Annona* oil based formulations, *Annona* oil concentrate 14 EC showed a good activity which was on par with the Neem formulation (Neem Ex 17.5 EC). The Annonol 92 EC formulation showed relatively less activity.

Table I. Bioefficacy of Annona formulations against Bihar Hairy Caterpillar *Spilosoma obliqua*.
Tableau I. Efficacité des formulations d'annone contre la chenille poilue du Bihar, *Spilosoma obliqua*.

S. No.	Formulation	Concentration (%)	Leaf area protected after 48 h of treatment (%)	Antifeedant activity after 48 h of treatment (%)
No. D'ordre			Surface foliaire protégée après 48 h de traitement (%)	Activité antiappétante après 48h de traitement
1	Annona leaf aqueous extract 25% <i>Extrait aqueux de la feuille d'annone</i>	5ml/l (0.125)	68.09 (55.63)	31.62
		10 ml/l (0.25)	78.29 (62.26)	52.47
2	Annona leaf methanol extract 11.25 EC <i>Extrait méthanol de la feuille d'annone 11.25 CE</i>	5 ml/l (0.05625)	81.68 (64.70)	59.98
		10 ml/l (0.1125)	84.32 (66.80)	65.09
3	Annona Seed methanol extract 14 EC <i>Extrait méthanol de graine d'annone 14 CE</i>	5 ml/l (0.07)	82.35 (66.20)	60.92
		10 ml/l (0.14)	88.92 (70.65)	75.56
4	Annonol 92 EC (Annona seed oil) <i>(Huile de graine d'annone)</i>	5ml/l (0.46)	87.64 (69.44)	72.53
		10 ml/l (0.92)	94.77 (77.00)	88.39
5	Annona oil concentrate 14 EC <i>Concentré d'huile d'annone 14 CE</i>	5 ml/l (0.07)	90.00 (71.70)	78.09
		10 ml/l (0.14)	97.00 (80.44)	93.31
6	Annona Seed Powder aqueous extract <i>Extrait aqueux de poudre de graine d'annone</i>	25 g/l (2.5)	87.36 (69.21)	71.83
		50g/l (5.0)	89.77 (71.38)	77.74
7	Neem Ex 17.5 EC	5 ml/l (0.0875)	92.59 (74.31)	83.51
		10 ml/l (0.175)	96.66 (79.86)	92.26
8	Control / <i>Témoin</i>	-	54.30 (47.49)	0.00
	Formulation (F)	SE m ± CD (0.05)	0.97 2.82	
	Concentration (C)	SEm ± CD (0.05)	0.52 1.51	
	F × C	SE m ± CD (0.05)	1.37 NS	

In parenthesis angular transformed (arcsin) values / *Entre parenthèses valeurs angulaires transformées (arcsin).*

Table II. Bioefficacy of Annona formulations against mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau II. Efficacité des formulations d'annone chez le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L.

S. No.	Formulation	Concentration (%)	Leaf area protected after 48 h of treatment (%)	Antifeedant activity 48 h of treatment (%)
No. D'ordre			Surface foliaire protégée après 48 h de traitement (%)	Activité antiappétante après 48 h de traitement (%)
1	Annona leaf aqueous extract 25% <i>Extrait aqueux de la feuille d'annone à 25 %</i>	5 ml/l (0.125)	67.38 (54.59)	51.78
		10 ml/l (0.25)	81.11 (64.45)	72.08
2.	Annona leaf methanol extract 11.25 EC <i>Extrait méthanol de la feuille d'annone 11.25 CE</i>	5 ml/l (0.05625)	79.82 (63.34)	70.17
		10 ml/l (0.1125)	88.17 (69.98)	82.52
3.	Annona seed methanol extract 14 EC <i>Extrait méthanol de graine d'annone 14 CE</i>	5 ml/l (0.07)	84.68 (67.00)	77.34
		10 ml/l (0.14)	92.18 (73.87)	88.44
4.	Annonol 92 EC (Annona seed oil) <i>(huile de graine d'annone)</i>	5 ml/l (0.46)	88.20 (69.98)	82.56
		10 ml/l (0.92)	96.70 (80.37)	95.12
5.	Annona oil concentrate 14 EC <i>Concentré d'huile d'annone 14 CE</i>	5 ml/l (0.07)	93.50 (75.40)	90.39
		10 ml/l (0.14)	100.00 (90.00)	100.00
6	Annona seed powder aqueous extract <i>Extrait aqueux de poudre de graine d'annone</i>	25 g/l (2.5)	89.47 (71.11)	84.44
		50 g/l (5.0)	92.10 (73.78)	88.33
7.	Neem Ex EC 17.5	5 ml/l (0.0875)	92.68 (74.44)	89.19
		10 ml/l (0.175)	100.00 (90.00)	100.00
8	Control / <i>Témoin</i>	-	32.33 (34.88)	0.00
	Formulation (F)	SE m ± CD (0.05)	0.93 2.69	
	Concentration (C)	SE m ± CD (0.05)	0.50 1.44	
	F × C	SE m ± CD (0.05)	1.31 3.80	

In parenthesis angular transformed (aresin) values / *Entre parenthèses valeurs angulaires transformées (aresin).*

Table III. Residual toxicity of Annona formulations in terms of antifeedant activity (%) against mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.**Tableau III. Toxicité résiduelle des formulations d'annone en termes d'activité antiappétante (%) contre le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L.**

S. No.	Formulation	Concentration (%)	Days after treatment <i>Jours après le traitement</i>			
			4	7	10	13
1	Annona leaf aqueous extract 25% <i>Extrait aqueux de feuille d'annone</i>	5 ml/l (0.125)	40.13 (39.30)	11.90 (20.15)	5.37 (13.27)	0.00 (0.00)
		10 ml/l (0.25)	58.57 (49.94)	23.47 (28.99)	12.14 (20.33)	3.40 (10.58)
2	Annona leaf methanol extract 11.25 EC <i>Extrait méthanol de la feuille d'annone 11.25 CE</i>	5 ml/l (0.05625)	51.89 (46.09)	21.93 (27.91)	6.70 (14.98)	0.00 (0.00)
		10 ml/l (0.1125)	62.68 (52.34)	30.42 (33.45)	17.31 (24.57)	5.48 (13.55)
3	Annona seed methanol extract 14 EC <i>Extrait méthanol de la graine d'annone 14 CE</i>	5ml/l (0.07)	56.11 (46.84)	27.56 (31.66)	12.88 (20.96)	2.00 (8.13)
		10 ml/l (0.14)	65.56 (54.08)	40.39 (39.44)	21.82 (28.05)	9.65 (18.09)
4	Annonol 92 EC (Annona seed oil) <i>(Huile de graine d'annone)</i>	5 ml/l (0.46)	64.22 (53.27)	34.58 (36.03)	16.30 (23.81)	2.12 (8.30)
		10 ml/l (0.92)	74.10 (59.45)	50.10 (45.04)	27.61 (31.68)	10.78 (19.14)
5	Annona oil concentrate 14 EC <i>Concentré d'huile d'annone 14 CE</i>	5 ml/l (0.07)	68.47 (55.86)	46.25 (42.87)	24.73 (29.79)	7.46 (15.83)
		10 ml/l (0.14)	79.27 (62.92)	58.74 (50.05)	40.06 (39.26)	18.79 (25.68)
6	Annona Seed powder aqueous extract <i>Extrait aqueux de poudre de graine d'annone</i>	25 g/l (2.5)	58.07 (49.64)	33.43 (35.34)	10.79 (19.05)	0.00 (0.00)
		50g/l (5.0)	63.78 (53.02)	37.16 (37.55)	15.78 (23.39)	3.22 (10.25)
7	Neem Ex 17.5 EC	5 ml/l (0.0875)	62.35 (52.15)	38.83 (38.54)	18.00 (25.06)	0.86 (5.31)
		10 ml/l (0.175)	73.16 (58.82)	52.80 (46.58)	29.48 (32.86)	8.63 (17.05)
8	Control / <i>Témoin</i>	-	0.00	0.00	0.00	0.00
	Formulation (F)	SE m ±	0.79	0.59	0.77	0.44
		CD (0.05)	2.28	1.72	2.24	1.27
	Concentration (C)	SE m ±	0.42	0.32	0.41	0.23
		CD (0.05)	1.22	0.92	1.20	0.68
	F × C	SE m ±	1.11	0.84	1.09	0.62
		CD (0.05)	NS	2.43	NS	NS

In parenthesis angular transformed (arcsin) values/ *Entre parenthèses valeurs angulaires transformées (arcsin).*

This clearly indicated that Annona oil is the best antifeedant. Similar results were reported by Srinivasa Rao *et al.*, (1996, 1999) on *Achoea janata* and *Helicoverpa armigera*. Annona leaf aqueous extract was found least effective, which may be due to the presence of less acetogenins in the leaves. Annona seed powder also showed a good effect compared to other non-oil-based formulations. In all formulations, the antifeedant activity increased proportionately with the increase in concentration. From the data (Table I) it became evident that the seed oil based formulations acted as best antifeedants, seed extracts showed moderate action and leaf based formulations as least antifeedants. The activity of formulations as feeding deterrents was in the following order: Neem Ex. 17.5 EC > Annona oil concentrate 14 EC > Annonol 92 EC > Annona Seed Powder aqueous extract > Annona Seed methanol extract 14 EC > Annona leaf methanol extract 11.25 EC > Annona leaf aqueous extract 25%.

All the botanical formulations showed a greater antifeedant activity against mulberry silkworm when compared to the Bihar hairy caterpillar (Table I and II). The relative effectiveness of different treatments showed a similar trend with both the insect species. Two way analysis of data showed that differences, among formulations and concentrations were statistically significant with both the species but interaction was significant only with silkworm (Table I and II).

Residual toxicity:

The results from residual toxicity (Table III) clearly indicated the number of days of safe feeding of treated mulberry leaves to the silkworms after the botanical sprayings. All the treatments showed the antifeedant activity upto 7 days after spraying. The feeding was lower in higher concentrations on the 10th day after treatment while in lower concentration the feeding was not affected significantly. However in Annona oil concentrate 14 EC, Annonol 92 EC and Neem EX 17.5 EC even lower concentrations were still active (24.73%, 16.30%, 18% respectively). On the 13th day after treatment, all the treatments lost their antifeedant activity except the oil based Annona formulations and Neem formulation.

At lower concentrations of Annona leaf aqueous extract 25%, Annona leaf methanol extract 11.25 EC and Annona seed powder aqueous extract the antifeedant activity was nil. Hence mulberry leaves sprayed with Annona leaf aqueous extract 25% and Annona leaf methanol extract 11.25 EC can be fed to silkworm on 10th day itself.

In the present investigation the overall efficacy of Annona botanicals against Bihar hairy caterpillar was good. However the activity of botanicals against silkworm was more than the Bihar hairy caterpillar after two days of treatment. The botanicals did not show any toxic effect to silkworm except minimising the feeding activity. Till the 10th day after spraying, the leaves should not be offered to the silkworms. To maintain the continuity of mulberry feeding in sericulture, it is advised to keep a part of mulberry field without spraying while conducting the spraying on the remaining field. These results are promising practically to develop an Annona based botanical pesticide for controlling Bihar hairy caterpillar on mulberry.

ACNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Biotechnology Unit of Institute of Public Enterprise, OU Campus, Hyderabad, India for their financial assistance.

REFERENCES

- KAWAZU K., ALACANTARA J.P., KOBAYASHI A. (1989) Isolation and structure of Neoannonins, a novel insecticidal compound from the seeds of *Annona squamosa*. Agricultural and Biological Chemistry 53(10):2719-2727.

- MARIAPPAN V. & SAXENA R.C. (1984) Effect of mixture of custard apple and Neem oil on survival of *Nephotettix viroscens* and rice tungro virus transmission. *Journal of Economic Entomology* 77: 519-521.
- MARIAPPAN V., SAXENA R.C., LING K.C. (1982) Effect of custard apple oil on the life span of tungro virus transmitted *Nephotettix viroscens*. *International Rice Research Newsletter*. 7:13-14.
- RUPPRECHT J.K., HUI Y.M., MC LAUGHLIN J.L. (1990) Annonaceous acetogenins : a review. *Journal of Natural Products*. 53(2): 237-278.
- SCHMUTTERER H. (1990) Properties and Potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica* *Annu Rev. Entomol.* 35:271-97.
- SCHMUTTERER H. (1984) Neem research in Federal Republic of Germany since the first international neem conference. *Natural pesticides from Neem Tree and other tropical plants* (eds. Schmutterer, H. and Ascher, Esch born), Federal Republic of Germany: Germany Society for Technical Co-operation, pages 21-30.
- SINGH R.P. & PANTH N.C. (1980) Investigation on the antifeedant property of sub family Amaryllidoideae (Amaryllidaceae) against desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Forsk. Indian Journal of Entomology* 42(3):465-468.
- SRINIVASA RAO M., VENKATESWARLU B. & SANKARAM A.V.B. (1996) Evaluation of Neem and Custard apple formulations against castor semilooper, *Achoea janata*. *Linn. Pestology* XX(8): 16-19.
- SRINIVASA RAO M., RAMAN G.V., SRIMANNARAYANA G. & VENKATESWARLU B. (1999) Efficacy of botanicals against gram pod borer, *Helicoverpa armigera*. *Hub. Pestology* XXIII(1) 18-22.

EFFICACITE DE FORMULATIONS D'ANNONE (*ANNONA SQUAMOSA*) CONTRE LA CHENILLE POILUE DU BIHAR (*SPILOSOMA OBLIQUA*, WALKER), UN INSECTE PARASITE DU MURIER, ET LE VER A SOIE (*BOMBYX MORI* LINN)

G.V. RAMAN, M. SRINIVASA RAO, G. SRIMANNARAYANA* &
B. VENKATESWARLU

Central Research Institute for Dryland Agriculture (CRIDA), Santoshnagar, Hyderabad,
Inde – 500 059.

*D'après des essais en laboratoire, des formulations d'annone (*Annona squamosa*) s'avèrent très efficaces contre la chenille poilue du Bihar (*Spilosoma obliqua*), un insecte parasite du mûrier. Les formulations à base d'huile d'annone sont les meilleurs anti-appétants, suivies par les extraits de graines d'annone et par les formulations à base de feuille. Tous ces produits ont été comparés au pesticide Neem. A la même concentration, l'effet anti-appétant de produits à base d'annone est plus important chez le ver à soie que chez la chenille poilue du Bihar. Cependant la toxicité résiduelle envers le ver à soie ne dure que 10 à 13 jours, après cela les vers se nourrissent normalement sur les feuilles traitées. Ces résultats montrent que les extraits d'annone pourraient être utilisés comme insecticides contre les insectes du mûrier et qu'ils sont sans effet sur le ver à soie si la période d'attente pour la récolte des feuilles est respectée.*

INTRODUCTION.

L'Inde est le deuxième producteur de soie grège dans le monde. Cependant les rendements moyens sont faibles et la qualité donne certaines inquiétudes. Sans aucun doute, la nourriture est un facteur important ayant une influence sur la qualité et la quantité de soie grège produite. Les insectes et les maladies sont les principales contraintes de la culture du mûrier, qui est la source de nourriture principale du ver à soie, *Bombyx mori* (L.). La chenille poilue du Bihar (*Spilosoma obliqua* Walker) est l'un de ces insectes nuisibles au mûrier en Inde. Elle est polyphage, vorace et très destructrice. Les pesticides de synthèse polluent l'environnement, entraînent le développement d'une résistance chez les insectes et présentent des risques pour la santé des êtres humains. De plus, le ver à soie est sensible aux résidus des produits chimiques. En Inde, on essaie donc depuis quelques temps de lutter contre les insectes sans les pesticides en utilisant notamment des pesticides biologiques et en gérant les cultures.

Les produits botaniques sont aussi utilisés dans les plantations dans le cadre du programme de lutte intégrée contre les insectes (IPM). Les produits botaniques sont plus appropriés pour la sériciculture parce qu'ils ne présentent pas de risque élevé contre l'environnement. Ils sont facilement biodégradables et leur toxicité résiduelle est minime comparée aux produits de synthèse. Les pesticides à base de neem font partie des groupes de produits botaniques déjà populaires dans le cadre de l'IPM (Schmutterer 1984 et 1990). L'annone (*Annona squamosa*) est une autre source de pesticides botaniques et elle a un bon potentiel. Il existe beaucoup de documentation sur l'activité insecticide

* Department of Chemistry, Osmania University, Hyderabad, Inde –500 007.

des composés de l'annone ; les acétogénines (Rupprecht et coll., 1990). Jusqu'à présent, on a isolé vingt acétogénines de l'annone. Elles se caractérisent comme un nouvel acide gras de dihydroxy-bis-tetrahydrofuran contenant 30 atomes de carbone. Ces composés ont une activité cytotoxique, anti-tumorale, anti-microbienne, antiappétante et insecticide (Kawazu et coll., 1989). Des extraits bruts d'annone ont été testés avec succès contre les insectes du riz (Marippan et Saxena 1982 et 1984), les insectes du ricin (Srinivasa Rao et coll., 1996) et du coton pour leur activité anti-appétante et insecticide (Srinivasa Rao et coll., 1999). Dans notre étude, nous avons testé en laboratoire l'activité antiappétante de différents extraits d'annone contre la chenille poilue du Bihar. Comme ces produits botaniques pourraient avoir un effet sur le ver à soie, le test antiappétant a également été réalisé dans des conditions similaires avec le ver à soie du mûrier. On a aussi évalué la toxicité résiduelle des produits botaniques à base d'annone sur le ver à soie en vaporisant la plantation de mûrier.

MATERIELS ET METHODES

Les extraits d'annone ont été préparés sous la forme de concentrés émulsifiants au Département de Chimie de l'Université d'Osmanie à Hyderabad en Inde. Au total, six extraits et formulations d'annone ont été préparés à partir de la feuille, de la graine et de l'huile de la graine. Un extrait aqueux d'annone à 25 % et un extrait méthanol à 11, 25 de CE ont été préparés à partir de la feuille. On a aussi pris un extrait de méthanol de la graine d'annone de 14 CE et des extraits aqueux de poudre de graine d'annone et on a préparé de l'annonol à 92 CE et un concentré d'huile d'annone de 14 CE à partir de l'huile de la graine d'annone. Une formulation de Neem EX 17,5 CE a aussi été préparée pour être comparée (Tableau I).

Dosage biologique en laboratoire (activité antiappétante) :

Le test anti-appétant est réalisé avec la méthode sans choix en utilisant des feuilles de mûrier. Des larves de troisième âge, de taille uniforme de la chenille poilue du Bihar sont utilisées pour le dosage biologique. Avant le traitement, la surface de la feuille de mûrier est mesurée. Toutes les formulations sont diluées en deux doses, 5 ml/l et 10 ml/l, tandis que la poudre de graine est préparée en doses de 25 g/l et 50 g/l. Les feuilles sont trempées dans les concentrations respectives pendant une minute et séchées à l'air libre. Le pétiole de la feuille est attaché à des bouts de coton mouillé pour que sa fraîcheur se maintienne. On place une feuille dans un bocal contenant une larve du 3^{ème} âge préalablement affamée. Pour chaque traitement, on prépare 10 bocaux de ce type et chaque traitement est répété trois fois. La surface de la feuille est mesurée après 48 heures de traitement et le pourcentage de surface foliaire protégée par le traitement est calculé. La même procédure est suivie pour le dosage biologique chez le ver à soie. Là aussi, des vers à soie du troisième âge sont conservés dans des bocaux d'expérimentation.

Toxicité résiduelle :

Les formulations dont l'antiappétence a été évaluée avec la chenille poilue du Bihar et avec le ver à soie sont aussi étudiées pour leur toxicité résiduelle chez le ver à soie. Toutes les formulations sont vaporisées sur des mûriers sains en champs. Chaque traitement est appliqué sur 10 mûriers étiquetés. Après le traitement, le test antiappétant est réalisé d'une manière similaire au dosage biologique en laboratoire le 4^{ème}, le 7^{ème}, le 10^{ème} et le 13^{ème} jour. La surface foliaire consommée par les vers à soie est mesurée et calculée 24 heures après que les vers aient consommé des feuilles traitées.

Le pourcentage d'activité antiappétente est calculé d'après la méthode de Panth et Singh (1980). Les données obtenues d'après le dosage biologique en laboratoire et d'après les études de toxicité résiduelle sont traitées par analyse de variance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dosage biologique en laboratoire (activité antiappétente) :

Toutes les formulations botaniques s'avèrent supérieures par rapport au témoin non traité. Parmi les formulations à base d'huile d'annone, le concentré en huile d'annone de 14 CE a une activité efficace qui est égale à celle de la formulation de Neem (Neem Ex 17,5 CE). La formulation d'Annonol de 92 CE a une activité relativement inférieure.

Cela indique clairement que l'huile d'annone est le meilleur antiappétant. Des résultats similaires ont été rapportés par Srinivasa Rao et coll., (1996, 1999) chez *Achoea janata* et *Helicoverpa armigera*. L'extrait aqueux de feuille d'annone s'avère moins efficace, ce qui est peut-être dû à la présence plus faible en acétogénines dans les feuilles. La poudre de graine d'annone a aussi un effet convenable comparée aux autres formulations sans huile. Pour toutes les formulations, l'activité antiappétente augmente proportionnellement à la concentration. D'après les données (Tableau I), il est évident que les formulations à base d'huile de graine sont les meilleurs antiappétents, que les extraits de graine ont une action modérée et que les formulations à base de feuilles sont les antiappétents les moins efficaces. L'efficacité des formulations comme antiappétents se classe dans l'ordre suivant : Neem Ex. 17,5 CE > concentré d'huile d'annone 14 CE > extrait aqueux de poudre de graine d'annone Annonol 92 CE > extrait de méthanol de graine d'annone de 14 EC > extrait de méthanol de la feuille d'annone de 11,25 CE > extrait aqueux de feuille d'annone de 25 %.

Toutes les formulations botaniques ont une activité antiappétente plus grande avec le ver à soie du mûrier qu'avec la chenille poilue du Bihar (Tableaux I et II). D'autres traitements différents présentent la même tendance avec ces deux espèces d'insectes. L'analyse croisée des données montre que les différences entre les formulations et les concentrations sont significatives sur le plan statistique avec les deux espèces mais que l'interaction n'est significative qu'avec le ver à soie (Tableaux I et II).

Toxicité résiduelle :

Les résultats de toxicité résiduelle (Tableau III) indiquent clairement le nombre de jours après lequel on peut nourrir les vers à soie sans risque avec des feuilles de mûrier traitées. Tous les traitements ont une activité antiappétente jusqu'à 7 jours après la vaporisation. L'alimentation diminue avec les concentrations les plus élevées 10 jours après le traitement tandis qu'avec les concentrations plus faibles l'alimentation n'est pas affectée de manière significative. Cependant, même les concentrations les plus faibles sont encore actives avec le concentré d'huile d'annone de 14 CE, l'annonol 92 CE et le Neem EX. 17,5 CE (24,73 %, 16,30 % et 18 % respectivement). Le 13^{ème} jour après le traitement, tous les traitements perdent leur efficacité antiappétente sauf les formulations à base d'huile d'annone et la formulation Neem.

A des concentrations plus faibles, l'activité antiappétente de l'extrait aqueux de feuille d'annone à 25 %, de l'extrait de méthanol de feuille d'annone à 11,25 CE et de l'extrait aqueux de poudre de graine d'annone, est nulle. On peut donc donner des feuilles de mûrier vaporisées avec 25 % d'extrait aqueux de feuille d'annone, et avec l'extrait de méthanol de la feuille d'annone à 11,25 CE aux vers à soie le dixième jour.

Cette étude démontre l'efficacité globale des produits botaniques à base d'annone contre la chenille poilue du Bihar. Cependant, l'activité des produits botaniques après deux jours de traitement est plus importante chez le ver à soie que chez la chenille poilue du Bihar. Les produits botaniques n'ont pas d'effet toxique chez le ver à soie si ce n'est qu'ils diminuent son alimentation. Les feuilles ne doivent pas être proposées au ver à soie pendant les 10 jours qui suivent la vaporisation. Pour assurer la continuité de l'alimentation en mûrier, il est conseillé de garder une partie de mûraie sans vaporisation tout en vaporisant le reste du champ. Sur le plan pratique ces résultats sont prometteurs pour mettre au point un pesticide botanique à base d'annone permettant de lutter contre la chenille poilue du Bihar.

RANKING OF FOLIAR CONSTITUENTS IN MORPHOTYPES OF MUGA FOOD PLANT - *MACHILUS BOMBYCINA* KING

K. SINGH, A. SRIVASTAVA, D. PRAKASH*, P. K. DAS, A.A. SIDDIQUI** & S.S. RAGHUVANSHI

In vitro Culture and Plant Genetics Unit, Department of Botany, University of Lucknow, Lucknow – 226 007, U.P., India.

The overall nutritive value of the leaves of morphotypes of Machilus bombycina King. (Fam. Lauraceae) was assessed on the basis of the method of Arunachalam and Bandyopadhyay (1984). The leaf size (length and breadth) of randomly chosen leaves of different morphotypes was measured and actual means were calculated. Biochemical constituents i.e. protein, sugar, vitamins C and A, nitrate, oxalate, chlorophyll and oil were estimated by standard methods and variance analysis was done for all the characters. On the basis of critical difference the means were grouped into their relative classes and scores were allotted for each character. The sum of the scores led to the final ranking. S₅ was found to be the best with regard to the size and the chemical constitution followed closely by S₇ and S₁ while S₄ ranked last.

Keywords: Som, *Antheraea assama*, nutritive, ranking, dependent characters.

INTRODUCTION

The muga silkworm, *Antheraea assama* is restricted to Assam in India and feeds on specific host trees i.e., *Machilus bombycina*, *Litsaea polyantha*, *Michelia champaca* and *Cinnamomum obtusifolium*. But *Machilus bombycina*, commonly known as som and a member of the family Lauraceae, is the chief food plant. It grows gregariously, forming forests and is often cultivated around villages to feed the worm. *Machilus* is a medium sized tree with spreading branches and is endemic to Assam, Meghalaya and North Bengal in India. The quality of leaves has got a direct influence on the health, growth and survival of silkworm (Sinha *et al.*, 1986). The quality and quantity of the cocoon crop of the worm directly depends on the nutrition provided by the leaves. Therefore, the selection of the food plants possessing superior nutritive value should be done for obtaining a healthy crop. Eight morphotypes of *Machilus bombycina* have been identified by Raja Ram *et al.*, (1993) on the basis of leaf morphology and are maintained at the fields of Regional Muga Research Station, Boko Assam. The samples were collected from Boko, Assam and both morphological and biochemical investigations were made.

Finally on the basis of the method of Arunachalam and Bandyopadhyay (1984) for making decisions jointly on a number of dependent characters, ranking of the morphotypes was done in order to identify the nutritionally superior morphotype.

* National Botanical Research Institute, Lucknow, U.P., India.

** Regional Muga Research Station, Boko, Assam, India.

In this method population means were arranged in groups based on significance values. The topmost group containing the population with the highest mean was given a score 1, the next best a score 2 and so on. If "k" was the number of groups for a particular character, the population in group 1 was given a score $1/k$, those in groups 2 a score $2/k$ and so on to obtain standardised scores across the character later on. When overlapping of groups occurs, as it is possible that a population falls in group 1 and also in group 2, the score for that population was taken to be the average which would thus equal to $(1+2/2k) = 3/2k$. Population occurring in more than 2 groups were treated in the same manner for allotment of scores. The individual scores for each character were added up to provide a total score for each population. The populations were then ranked in descending order of the numerical values of total scores, the minimum score being allotted the first rank and so on.

MATERIALS AND METHODS

The leaves of approximately uniform age and location – 3rd from the tip were collected from the eight morphotypes of *Machilus bombycina* growing at Regional Muga Research Centre, Boko, Assam. Standard methods of biochemical assay were followed for establishing the leaf constitution. The protein was assayed by the method of Lowry *et al.*, (1951), carbohydrate by Dubius (1956), oil by the method of Cocks & Rede (1966), carotenoid was estimated according to Jensen (1978), oxalate by Winton and Winton (1958) gravimetric and titrametric method while nitrate was analysed following the method of Marderosian *et al.*, (1980) and vitamin C by the AOAC protocol (1984).

RESULTS AND DISCUSSION

The size and biochemical composition of the leaves of *Machilus bombycina* along with their relative groupings have been given in Table I. The protein content of the leaves of *Machilus* ranged from a maximum of 12.20 in S₈ to 9.65 in S₄ and on the basis of variance and critical differences 6 groups were recognised. Sugar varied from a maximum of 8.9 in S₃ to a minimum of 5.8 in S₁ and S₈ and 5 groups were recognised with the last group having 3 morphotypes.

The vitamin C was maximum in S₂ and minimum in S₈ and showed significant differences between their means, thereby leading to 7 groups for this character. Vitamin A also showed a significant variation among the morphotypes thereby establishing 7 groups. The morphotype S₁ had the maximum vitamin A while S₇ had the minimum amount. The chlorophyll in *Machilus* leaves showed the maximum variation with all the morphotypes differing significantly from each other leading to 8 groups. Maximum chlorophyll was found for S₈ and minimum for S₄. Minimum intermorphotype variation was found for the oil content as only two ranks were identified. The maximum oil content was found for S₇ and minimum for S₂ and S₃.

Oxalates and nitrates are inhibitors of the normal growth and metabolism of the worms and are therefore referred to as antifeedants. Consumption of plant material with high levels of nitrate can lead to an acute intoxication producing varied symptoms. Nitrate toxicity reduces the growth and may cause vitamin A deficiency and infertility. Oxalates may cause a local irritation or cause systemic problems. They can also affect the electrolytes in the body such as the balance of calcium and magnesium. The nitrate content varied from a minimum of 2.39 in S₆ to a maximum of 6.36 in S₂. S₅ and S₃ also had a low nitrate content but S₇, S₈ and S₄ had nitrate towards the higher side. Oxalate content was minimum for S₇, followed closely by S₈ and then S₁ and S₂. S₅, S₃ and S₆ had an oxalate content of 2.1, 2.3 and 2.5 respectively while S₄ had the highest of 3.3.

A number of dependent characters need to be studied for establishing the relative superiority of morphotypes. The scores were allotted to the eight morphotypes of *Machilus* for the aforesaid chemical constituents as suggested by Arunachalam and Bandyopadhyay (1984) where lower score signifies higher ranking. It is evident from the table that the S₅ morphotype is the best with regard to the morphology as well as the chemical constitution (Table II), followed very closely by S₇ and S₁.

Banerjee *et al.*, (1993) studied the foliar constituents of seven food plants of temperate tasar silkworm and found significant differences among them. Ranking of the different constituents according to Arunachalam and Bandyopadhyay established *Castanopsis hystrix* as the best among the 7 food plants followed by *Quercus lunneata* and *C. tribuloides*. *C. indica* achieved the lowest position.

Table I. Relative ranking of different morphotypes of *Machilus bombycina*.

Tableau I. Classement relatif de différents morphotypes de *Machilus bombycina*.

Morphotype	Leaf Area (cm ²)	Leaf moisture (%)	Protein (mg/100 g)	Sugar (mg/100 g)	Vit. C (mg/100 g)	Vit. A (mg/100 g)	Nitrate (%)	Oxalate (%)	Chlorophyll (mg/100 g)	Oil
	Surface foliaire (cm ²)	Humidité de la feuille (%)	Protéines (mg/100 g)	Sucres (mg/100 g)					Chlorophylle (mg/100 g)	Huiles
S1	45(1)	67(3)	10.28(4)	5.8(5)	15(2, 3)	85(1)	5.34(6)	1.8(2)	4.430(2)	5.9(1)
S2	40(3)	64.2(4)	9.86(5)	6.0(4, 5)	20(1)	65(3)	6.36(7)	1.8(2)	3.225(6)	3.2(2)
S3	26(5)	68(3)	10.28(4)	8.9(1)	14(3, 4)	38(6)	3.51(3)	2.3 (3, 4)	3.440(4)	3.3(2)
S4	25(5)	73(1)	9.65(6)	6.2(4)	15 (2, 3)	36(6)	4.96 (5)	3.3 (5)	1.868(8)	5.4(1)
S5	45.8(1)	68.2(3)	10.48(3)	6.9(3)	16(2)	73(2)	3.46(2)	2.1(3)	3.034(7)	5.7(1)
S6	45.1(1)	72(1, 3)	11.46(3)	5.9(5)	13(4)	58(4)	2.39(1)	2.5(4)	3.356(5)	6.1(1)
S7	43(2)	71.8(2)	12.20(1)	7.7(2)	10(5)	27(7)	4.30(4)	1.4(1)	4.258(3)	7.1(1)
S8	33(4)	71.2(2)	11.88(2)	5.8(5)	9(5)	42(5)	4.30(4)	1.7(2)	4.626(1)	6.4(1)
C.D.	1.9738	1.9365	0.0704	0.22601	1.4982	2.5118	0.1057	0.2115	0.0488	1.7413

Table II. Scores allotted to the different morphotypes of *Machilus bombycina*.Tableau II. Notes attribuées aux différents morphotypes de *Machilus bombycina*.

Morphotype	Leaf Area	Leaf moisture	Protein	Sugar	Vit. C	Vit. A	Nitrate	Oxalate	Chlorophyll	Oil	Total	Rank
	Surface foliaire	Humidité de la feuille	Protéines	Sucres					Chlorophylle	Huile		Classement
S1	1/5	3/4	4/6	5/5	5/10	1/7	6/7	2/5	2/8	1/2	5.25	3
S2	3/5	4/4	5/6	9/10	1/5	3/7	7/7	2/5	6/8	2/2	7.1	7
S3	5/5	3/4	4/6	1/5	7/10	6/7	3/7	7/10	4/8	2/2	6.78	6
S4	5/5	1/4	6/6	4/5	5/10	6/7	5/7	5/5	8/8	1/2	7.61	8
S5	1/5	3/4	3/6	3/5	2/5	2/7	2/7	3/5	7/8	1/2	4.68	1
S6	1/5	3/8	3/6	5/5	4/5	4/7	1/7	4/5	5/8	1/2	5.5	4
S7	2/5	2/4	1/6	2/5	5/5	7/7	4/7	1/5	3/8	1/2	5.1	2
S8	4/5	2/4	2/6	5/5	5/5	5/7	4/7	2/5	1/8	1/2	5.9	5

Srivastava *et al.*, (1990) reported genotypes O₁ and O₂ to be the best performers with respect to the leaf characters amongst 24 genotypes of *Terminalia* collected from various locations in Bihar. Srivastava *et al.*, (1998) have used the ranking method for the foliar constituents of the tasar silkworm host plant *Terminalia*. Similar ranking was performed in the muga food plant *Machilus bombycina* and on the basis of the overall leaf characteristics i.e. leaf morphology and chemical constitution, morphotypes S₅ and S₇ were found to be the best for the muga worm. While ranking, oxalate and nitrate were ranked in the reverse manner i.e. morphotypes with lowest oxalate and nitrate content were given best ranks. The relevance of the above study is that the nutritionally elite variety can be identified and used for further commercial propagation.

ACKNOWLEDGEMENT

All authors are grateful to the department of Biotechnology and Central Silk Board, Ministry of Textiles, Gov. Of India for financial assistance.

REFERENCES

- AOAC (1984) Official methods of analysis (14th edn.) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, WA, USA.
- ARUNACHALAM V. & BANDYOPADHYAY A. (1984). A method to make decision jointly on a number of dependent characters. *Indian J. Genet.* 44(3): 419-424.
- BANERJEE N.D., CHAUDHARY S. K., SINHA U.S.P. & BRAHMACHARI B.N. (1993) Studies on the foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm. *Antheraea proylei* Jolly Ind. J. Seric. Vol. 32(2): 228-230.
- COCKS L.V. & REDE C.V. (1966) Laboratory handbook for oil and fat analysis Academic Press, London, UK.
- DUBIUS M. (1956) Calorimetric determination of sugar and related sugars. *Analytical Chemistry* 350-356.
- JENSEN A. (1978) Chlorophylls and carotenoids. In handbook of Physiological and biochemical methods ed. Helle Bust, T.A. Gaugie J.S. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. pp. 5-70.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.T., FARR A.L. & RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:65-275.
- MANDEROSIAN A.D., BEUTLER J., PFENDER W., CHAMBERS J., YODER R., WEINSTEIGER E. & SNEFT J. (1980) Nitrate and oxalate content of vegetable amaranth. Proc. Second Amaranth Conf. Rodale Press, Emmaus, PA, USA, 31-41.
- RAJARAM, SENGUPTA A.K., DAS R., DEVNATH M., SAMSON (1993) Collection, identification and evaluation of *Machilus bombycina* King (*Laurales Lauraceae*) germplasm, The muga food plant-1-) *Sericologia* 33(1): 109-124.
- SINHA A.K., CHOWDHARY S.K., BRAHMACHARI B.N. & SENGUPTA K. (1986) Foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm. *Antheraea proylei*. *Indian J. Seric* 25(1): 42-43.
- SRIVASTAVA P.K., SIDDIQUI A.A. & GOYAL A.K. (1990) Genetic variability in half sibseedling of *T. arjuna* Bedd. *Indian For.* 119(1):53-58.
- SRIVASTAVA P.K., SINHA U.S.P. & THANGAVELU K. (1998) Foliar characters and constituents in spontaneous hybrid genotypes of *Terminalia* (Pentoptera). *Indian J. Seric.* 37(1):76-78.
- WINTON A. & WINTON K.B. (1958) Analysis of food. John Wiley and Sons Inc. New York Champan and Hall Ltd.: 215-216.

CLASSEMENT DES CONSTITUANTS FOLIAIRES CHEZ LES MORPHOTYPES DE LA PLANTE HÔTE DU VER A SOIE MUGA - *MACHILUS BOMBYCINA* KING

K. SINGH, A. SRIVASTAVA, D. PRAKASH*, P.K. DAS, A. A. SIDDIQUI** & S.S. RAGHUVANSHI

In vitro Culture and Plant Genetics Unit, Department of Botany, University of Lucknow, Lucknow – 226 007, U.P., Inde.

La valeur nutritive globale des feuilles des morphotypes de Machilus bombycina King (Fam. Lauraceae) a été évaluée par la méthode d'Arunachalam et Bandyopadhyay (1984). La taille de la feuille (longueur et largeur) de différents morphotypes choisis au hasard est mesurée et les moyennes réelles sont calculées. Les quantités des constituants biochimiques, c'est à dire des protéines, des sucres, des vitamines C et A, des nitrates, des oxalates, de la chlorophylle et des huiles sont estimées grâce à des méthodes classiques et l'analyse de variance est réalisée pour tous les caractères. Les moyennes sont groupées dans différentes classes sur la base de la différence critique et des notes sont attribuées pour chaque caractère. La somme des notes donne le classement final. S5 est le meilleur pour la taille et la constitution chimique suivi de près par S7 et S1 tandis que S4 se classe dernier.

INTRODUCTION

Le ver à soie muga, *Antheraea assama* se limite à l'Assam en Inde et se nourrit sur des arbres hôtes spécifiques : *Machilus bombycina*, *Litsaea polyantha*, *Michelia champaca* et *Cinnamomum obtusifolium*. Mais *Machilus bombycina*, connu couramment sous le nom de Som et membre de la famille des Lauraceae, est la plante hôte principale. Elle pousse de manière grégaire et forme des forêts ; elle est souvent cultivée autour des villages pour nourrir le ver. *Machilus* est un arbre de taille moyenne avec des branches étendues et est propre à l'Assam, au Meghalaya et au nord du Bengale en Inde. La qualité des feuilles a une influence directe sur la santé, la croissance et la survie des vers à soie (Sinha et coll., 1986). La qualité et la quantité de la récolte de cocons dépendent directement de la valeur nutritive des feuilles. Il faut donc sélectionner des plantes hôtes ayant une valeur nutritive supérieure pour obtenir une bonne récolte. Huit morphotypes de *Machilus bombycina* ont été identifiés en fonction de la morphologie de la feuille par Raja Ram et coll., (1993), ils sont conservés dans les plantations de la Station de Recherche Régionale du Muga, à Boko dans l'Assam. Les échantillons ont été recueillis à Boko, dans l'Assam et on a procédé à des analyses morphologiques et biochimiques.

Enfin, les morphotypes ont été classés avec la méthode d'Arunachalam et Bandyopadhyay (1984) qui permet de juger un certain nombre de caractères dépendants dans le but d'identifier les morphotypes supérieurs sur le plan nutritionnel.

Avec cette méthode les moyennes des populations ont été groupées en fonction des valeurs significatives. La note 1 est attribuée au groupe supérieur c'est à dire aux populations dont les moyennes sont les plus élevées, la note 2 revient au groupe suivant et ainsi de suite. Si " k " est le

* National Botanical Research Institute, Lucknow, U.P., Inde.

**Regional Muga Research Station, Boko, Assam, Inde.

nombre de groupes pour un caractère particulier, on donne à la population du groupe 1 une note de $1/k$, à ceux du groupe 2 une note de $2/k$ et ainsi de suite pour obtenir des notes standardisées pour le caractère. Quand des groupes se chevauchent, car il est possible qu'une population tombe dans le groupe 1 et aussi dans le groupe 2, la note pour cette population est la moyenne qui serait donc égale à $1 + 2/2k = 3/2k$. La population présente dans plus de 2 groupes est traitée de la même manière pour attribuer les notes. Les notes individuelles pour chaque caractère sont ajoutées pour donner une note totale pour chaque population. Les populations sont ensuite classées dans l'ordre décroissant en fonction des valeurs numériques des notes totales, la note minimum recevant le premier rang et ainsi de suite.

MATERIELS ET METHODES

Les feuilles d'âge et de position (3^{ème} à partir du sommet) approximativement uniformes sont recueillies sur huit morphotypes de *Machilus bombycina* poussant au Centre Régional de Recherche sur le Muga, à Boko dans l'Assam. Des méthodes classiques d'analyse biologique sont suivies pour déterminer la constitution de la feuille. Les protéines sont évaluées par la méthode de Lowry et coll., (1951), les hydrates de carbone par celle de Dubius (1956), les huiles par la méthode de Cocks & Rede (1966), les caroténoïdes sont estimés d'après celle de Jensen (1978), l'oxalate par la méthode gravimétrique et titrimétrique de Winton et Winton (1958) tandis que les nitrates sont mesurés en suivant la méthode de Marderosian et coll., (1980) et la vitamine C selon le protocole d'AOAC (1984).

RESULTATS ET DISCUSSION

La taille et la composition biochimique des feuilles de *Machilus bombycina* et leurs groupements relatifs sont présentés dans le Tableau I. La teneur en protéines des feuilles de *Machilus* est comprise entre 12,20 pour S8 et 9,65 chez S4 et 6 groupes sont reconnus sur la base de la variance et des différences critiques. Les sucres varient d'un maximum de 8,9 pour S3 à un minimum de 5,8 pour S1 et S8 et 5 groupes sont reconnus, le dernier groupe ayant 3 morphotypes.

La quantité de vitamine C est maximum chez S2 et minimum chez S 8 et il y a des différences significatives entre les moyennes, ce qui donne 7 groupes pour ce caractère. La vitamine A présente aussi une variation significative entre les morphotypes, ce qui donne 7 groupes. Le morphotype S1 est le plus riche en vitamine A tandis qu'on enregistre la quantité la plus faible chez S7. Les feuilles de *Machilus* présentent la variation la plus élevée pour la chlorophylle et tous les morphotypes diffèrent de manière significative l'un de l'autre, ce qui donne 8 groupes. On trouve le plus de chlorophylle chez S8 et le moins chez S4. La variation intermorphotype minimum est observée pour la teneur en huile pour laquelle on ne compte que deux classes. S7 a la teneur maximum en huile et S2 et S3 la teneur minimum.

Les oxalates et les nitrates sont des inhibiteurs de la croissance normale et du métabolisme des vers et sont donc considérés comme des antiappétants. La consommation de plantes avec des niveaux élevés de nitrate peut entraîner une intoxication aiguë donnant des symptômes variés. La toxicité du nitrate diminue la croissance et peut entraîner une carence en vitamine A et une stérilité. Les oxalates peuvent entraîner une irritation locale ou créer des problèmes systémiques. Ils peuvent aussi avoir un effet sur les électrolytes dans le corps tels que l'équilibre en calcium et en magnésium soit modifié. La teneur en nitrates va d'un minimum de 2,39 pour S6 à un maximum de 6,36 pour S2. S5 et S3 ont aussi une teneur faible en nitrates mais S7, S8 et S4 ont une teneur en nitrates plutôt élevée. La teneur en oxalates est minimum pour S7, suivi de près par S8 et S1 et S2. S5, S3 et S6 ont une teneur en oxalates respectivement de 2,1 ; 2,3 et 2,5 tandis que S4 a la teneur la plus élevée de 3,3.

Un certain nombre de caractères dépendants doivent être étudiés pour déterminer la supériorité relative des morphotypes. Des notes ont été attribuées aux huit morphotypes de *Machilus* pour les constituants chimiques ci-dessus d'après la méthode d'Arunachalam et Bandyopadhyay (1984) pour

qui la note la plus basse signifie le classement le plus élevé. Il est évident d'après le tableau que le morphotype S5 est le meilleur du point de vue morphologique tout comme pour sa constitution chimique (Tableau II), suivi de près par S7 et S1. Banerjee et coll., (1993) ont étudié les constituants foliaires de sept plantes hôtes du ver à soie tempéré du tasar et trouvé des différences significatives entre eux. Le classement des différents constituants selon Arunachalam et Bandhopadhyay a établi *Castanopsis hystrix* comme le meilleur sur les 7 plantes hôtes suivi par *Quercus lunneata* et *C. tribuloides*. *C. indica* a la position la plus faible.

Sur 24 génotypes de *Terminalia* recueillis dans des endroits différents dans le Bihar, Srivastava et coll., (1990) ont observé qu'O1 et O2 obtenaient les meilleurs résultats pour les caractéristiques de leurs feuilles. Srivastava et coll., (1998) ont utilisé la méthode de classement des constituants foliaires chez la plante hôte du ver à soie tasar *Terminalia*. Nous avons réalisé un classement similaire pour la plante hôte du muga *Machilus bombycina* et d'après les caractéristiques générales de la feuille c'est à dire d'après sa morphologie et sa constitution chimique, les morphotypes S5 et S7 se sont révélés les meilleurs pour le ver à soie muga. Les nitrates et les oxalates se sont classés de manière inverse, c'est à dire que les morphotypes avec les teneurs les plus faibles en oxalates et en nitrates ont obtenu les meilleurs classements. L'utilité de cette étude est de déterminer les variétés supérieures sur le plan nutritionnel afin de les employer commercialement

PRUNING GUIDE FOR OAK TASAR SILKWORM REARING IN SUB HIMALAYAS

R.K. PANDEY*

Regional Tasar Research Station, Imphal 795002, India.

Trunks of oak, Quercus acutissima in Imphal were pruned and clipped at 4 feet above the ground level annually in winter upto 90% extent. Ninety days later, control oaks had less leaf yield, showing thereby that 25% clipping rejuvenated oak. The bioassay of oak tasar silkworm revealed that the quality of cocoons on 50 and 90% clipped oaks was better than 25% clipped and control oaks. Thus, annual clipping, dressing and pruning upto 90% extent was found essential in the winter season to maintain leaf quality for oak tasar silkworm rearing in spring season.

Keywords: *Quercus*, pruning, cocoon, bioassay.

INTRODUCTION

Various species of *Quercus* are found scattered over 1.8 million hectares of sub Himalayan India (Das and Pandey, 1991). Yet, production of oak tasar silk is negligible in India. Since, oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* J. is adapted to grow only on current shoots of certain *Quercus* species, management of pruning is important for maximum flush of quality leaves. In low altitude areas below 1000 m ASL evergreen *Q. incana* shoots are defoliated during winter to induce early sprouting in spring season (Bahl and Pandey, 1988). In China, alternate pruning and pollarding is carried to keep the fixed height and shape of oaks (Mathur and Vishwakarma, 1997). We do not really know whether and under what circumstances it may pay off. The present investigation gives insight into this matter. The key is knowing how much to prune.

MATERIALS AND METHODS

Out of 10 species within Indian boundaries useful for oak tasar culture, *Q. acutissima* is employed for recruitment due to fast growth (Bahl and Pandey, 1989). In the present work four stands of 20 year old oak, *Q. acutissima* were selected in Imphal. 16 trees were chosen from each of the four stands. Epicormic branches were pruned upto 90, 50 and 25% extent with a saw at 4 feet above the ground level of trunk. A group was left unpruned as control. Pruning was done in the first week of January, when these oak trees were in dormancy. In this practice oak trunks were pollarded every alternate years at 4 feet above the ground level. The success of pruning was determined by comparing with covariance analysis, the leaf yield per plant on different extent of pruned trees, with the leaf yield on the control trees after 90 days in spring season. The quality of leaves obtained from different categories of pruning was assessed by outdoor rearing of oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* under nylon net

* Current address: Eco Testing Laboratory, Central Silk Board, I.I.H.T., Chowkaghat, Varanasi 221 002, Uttar Pradesh, India.

cover. Nutritional indices were estimated by feeding *A. proylei* completely indoor (Pandey, 1996) on foliage from 90% clipped and unclipped (control) trees.

RESULTS AND DISCUSSION

25% clipping significantly increased leaf yield compared to the control trees but not 50 and 90% clipping (Table I). The purpose of pruning is to improve leaf quality and quantity for oak tasar silkworm rearing. It can be seen from Table II that on 25% clipped trees larval duration increased over a week, effective rate of rearing and shell ratio also declined. These results show that less than 50% clipping does not improve the quality of foliage.

Table I. Leaf yield of *Quercus acutissima* in response to clipping after 90 days of growth (Jan - March)

Tableau I. Rendement en feuilles de Quercus acutissima suite à une taille après 90 jours de croissance (Janv. - mars).

Clipping intensity (%)	Leaf yield per plant (kg)	Leaf yield per hectare under 4 × 4' (Mt/ha/harvest)
<i>Intensité de la taille (%)</i>	<i>Rendement en feuilles par plante (kg)</i>	<i>Rendement en feuilles par hectare (T/ha/récolte)</i>
Control (unclipped) <i>Témoin (sans taille)</i>	2.12	14.2
25	3.73	25.0
50	2.84	19.0
90 (drastic / intense)	2.72	18.2
CD at 5 %	0.81	3.09

Table II. Outdoor bioassay of oak tasar silkworm on foliage from three clipped categories under nylon net cover.*Tableau II. Essai biologique avec le ver à soie tasar du chêne élevé avec le feuillage provenant de trois types de taille sous un filet en nylon.*

Character	% Clipping intensity			C.D. at 5 %
Caractère	Intensité de taille (%)			D. C à 5 %
	90	50	25	
Larval duration (days:hr) <i>Durée larvaire (jours : heures)</i>	38.04	38.00	45.00	3.0
Effective rate of rearing (%) <i>Taux effectif d'élevage (%)</i>	95.2	95.0	89.8	4.7
Single cocoon weight (gm) <i>Poids d'un cocon (g)</i>				
Male / <i>Mâle</i>	4.48	4.02	3.68	0.2
Female / <i>Femelle</i>	6.2	5.06	5.02	0.1
Shell weight (gm) / <i>Poids de la coque</i>				
Male / <i>Mâle</i>	0.5	0.5	0.38	0.1
Female / <i>Femelle</i>	0.6	0.5	0.48	0.2
Shell ratio (%) / <i>Richesse soyeuse (%)</i>				
Male / <i>Mâle</i>	11.16	12.43	10.32	0.64
Female / <i>Femelle</i>	9.67	9.88	9.56	0.10

The effect of foliage quality on growth of oak tasar silkworm is presented in Table III. Nutritional indices of *A. proylei* fed on foliage from 90% clipped oak trees were significantly better than foliage from control (unclipped) trees. Combining these observations, it is recommended to prune *Q. acutissima* annually in the winter season upto 90% extent to maintain the leaf quality for spring crop of oak tasar cocoons.

Table III. Indoor nutritional indices of oak tasar silkworm in relation to foliage quality.*Tableau III. Indices nutritionnels du ver à soie tasar du chêne élevé à l'intérieur en fonction de la qualité du feuillage.*

Indices	Foliage from		C.D. at 5%
	90% clipped	unclipped tree	
	<i>Feuillage venant de</i>		<i>D.C. à 5%</i>
	<i>taille à 90 %</i>	<i>arbres sans taille</i>	
Relative consumption rate (mg/mg/day) <i>Taux de consommation relatif (mg/mg/jour)</i>	11.49	14.70	1.78
Relative growth rate (mg/mg/day) <i>Taux de croissance relatif (mg/mg/jour)</i>	1.06	0.97	0.01
Approximate digestibility (%) <i>Digestibilité approximative (%)</i>	47.52	43.13	17.86
Efficiency of conversion of digested food (%) <i>Efficacité de conversion de la nourriture digérée (%)</i>	30.36	25.11	11.70
Efficiency of conversion of ingested food (%) <i>Efficacité de conversion de la nourriture ingérée (%)</i>	9.33	7.59	5.3
Relative nitrogen consumption rate (mg/mg/day) <i>Taux relatif de consommation d'azote (mg/mg/jour)</i>	0.55	0.39	0.03
Relative nitrogen accumulation rate (mg/mg/day) <i>Taux d'accumulation relatif de l'azote (mg/mg/jour)</i>	0.10	0.10	0.01
Nitrogen utilisation efficiency (%) <i>Efficacité d'utilisation de l'azote (%)</i>	29.36	28.71	11.67

REFERENCES

- DAS P.K., PANDEY R.K. (1991) Scope for the improvement of oak tasar host plant, *Indian Silk*, 29(9), 18-21.
- BAHL R.K., PANDEY R.K. (1988) Influence of condensed tannins on cocoon yield in oak tasar silkworm rearing on *Quercus incana* Roxb., *Sericologia* 28(2), 221-224.

- BAHL R.K., PANDEY R.K. (1989) Recruitment of east Himalayan oak (*Quercus serrata*) in western Himalayas. Indian Forester 115 (2), 109-112.
- MATHUR S.K., VISHWAKARMA S.R. (1997) Chinese oak tasar farm technology and its relevance to Indian conditions. Indian silk 36(5), 11-15.
- PANDEY R.K. (1996) Indoor rearing of oak fed silkworm *Antheraea proylei* Jolly. Entomon 21 (3&4), 237-241.

GUIDE DE TAILLE POUR L'ELEVAGE DU VER A SOIE TASAR DU CHENE DANS LES ZONES SUB-HIMALAYIENNES

R.K. PANDEY*

Regional Tasar Research Station, Imphal 795002, Inde.

En Imphal, des troncs du chêne. Quercus acutissima ont été tondus et coupés annuellement en hiver jusqu'à 90 %, à quatre pieds au-dessus du sol. Quatre vingt dix jours plus tard, les chênes témoins ont un rendement en feuilles inférieur, ce qui prouve qu'une taille de 25 % rajeunit le chêne. L'essai biologique mené avec le ver à soie du chêne révèle que la qualité des cocons obtenus avec des chênes tondus à 50 % et 90 % est meilleure qu'avec du chêne taillé à 25 % et qu'avec les chênes témoins. Il est donc essentiel de couper et de tailler jusqu'à 90 % les arbres en hiver pour maintenir la qualité de la feuille afin d'élever le ver à soie du tasar du chêne au printemps.

INTRODUCTION

On trouve plusieurs espèces de *Quercus* éparpillées sur plus de 1,8 millions d'hectares dans les régions sub-himalayennes en Inde (Das et Pandey, 1991). Cependant la production de soie tasar du chêne est négligeable en Inde. Comme le ver à soie tasar du chêne, *Antheraea proylei* J. ne peut grandir qu'avec des pousses fraîches de certaines espèces de *Quercus*, il est important de s'occuper de la taille pour que la vigueur et la qualité des feuilles soient maximums. Dans les zones de basse altitude (au-dessous de 1000 m), les pousses du chêne vert *Q. incana* perdent leurs feuilles pendant l'hiver pour bourgeonner tôt au printemps (Bahl et Pandey, 1988). En Chine on pratique la taille et l'épétement alternés pour conserver la hauteur et la forme des chênes (Mathur et Vishwakarma, 1997). Nous ne savons pas si cela donne des résultats et dans quelles circonstances. C'est pourquoi cette étude se penche sur le sujet. Le plus important consiste à savoir dans quelles proportions il faut tailler.

MATERIELS ET METHODES

Sur 10 espèces présentes en Inde et utiles à l'élevage du tasar du chêne, *Q. acutissima* est employé à cause de sa croissance rapide (Bahl et Pandey, 1989). Dans ce travail, quatre plantations de chêne *Q. acutissima* âgées de 20 ans ont été sélectionnées en Imphal. Seize arbres sont choisis dans chaque plantation. Les branches ont été taillées avec une scie à 90, 50 et 25 %, quatre pieds au-dessus du sol. Un groupe n'est pas taillé et sert de témoin. La taille a lieu la première semaine de janvier, quand les chênes sont en dormance. Les troncs des chênes ont été étêtés une année sur deux à quatre pieds au-dessus du sol. Le succès de la taille est déterminé en comparant 90 jours après la taille de printemps le rendement en feuilles des arbres taillés à des degrés différents et le rendement en feuilles des arbres témoins grâce à l'analyse de covariance. La qualité des feuilles obtenues a été évaluée en réalisant des élevages à l'extérieur du ver à soie du chêne, *Antheraea proylei* sous un filet en Nylon. Les indices

* Adresse actuelle : Eco Testing Laboratory, Central Silk Board, I.I.H.T., Chowkaghat, Varanasi 221 002, Uttar Pradesh, Inde.

nutritionnels sont estimés en nourrissant *A. proylei* à l'intérieur (Pandey, 1996) avec du feuillage provenant d'arbres taillés à 90 % et d'arbres non taillés (témoins).

RESULTATS ET DISCUSSION

Une taille de 25 % augmente le rendement de manière significative par rapport aux arbres témoins contrairement aux tailles de 50 et 90 % (Tableau I). Le but de la taille est d'améliorer la qualité et la quantité de feuilles pour l'élevage du ver à soie du chêne. On observe d'après le tableau II qu'avec des arbres taillés à 25 %, la durée larvaire augmente d'une semaine, et que le taux effectif d'élevage et la richesse soyeuse baissent. Ces résultats montrent qu'une taille inférieure à 50 % n'améliore pas la qualité du feuillage.

L'effet de la qualité du feuillage sur la croissance du ver à soie du chêne est présenté dans le Tableau III. Les indices nutritionnels de *A. proylei* nourri sur du feuillage provenant d'arbres taillés à 90 % sont significativement meilleurs qu'avec du feuillage provenant d'arbres témoins (non taillés). A partir de ces observations, nous recommandons de tailler *Q. acutissima* annuellement pendant l'hiver jusqu'à 90 % pour maintenir la qualité de la feuille pour l'élevage de printemps du tassar du chêne.

EXPLORATIVE METHOD TO DETECT DETERRENT AND STIMULANT IN THE FOOD USING *BOMBYX MORI* AND *MAMESTRA BRASSICAE*

T. SHIMIZU*

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fucha, Tokyo 183-8509, Japan.

*An explorative method to detect stimulant and/or deterrent in the food based on mandibular movements is introduced using *Bombyx mori* and *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). Mandibular movements are induced by acceptance of odourance through the antenna and the maxillary sensilla basiconica, respectively. Mandibular biting action is not induced by acceptance of taste substances. The control mechanism of mandibular movements is based on the neural function of the suboesophageal ganglion (SG) of the central nervous system (CNS), particularly on the motor neurons to the mandibular muscle in the SG. The frontal ganglion (FG) is also implicated in the regulating of the feeding activity and growth.*

Keywords: Mandibular movements, sensilla styloconica, sensilla basiconica, *Bombyx mori*, *Mamestra brassicae*, suboesophageal ganglion (SG).

Identification of antifeedant of insects from the plant has been done, but as a method accelerating this research it is very important to obtain the reliable feeding bioassay. There are four methods as a traditional bioassay; 1) Measurement of electropotential from the sensilla styloconica (Ss) (Fig. 1) to test compound which is eluted by an HPLC (Table 1). 2) A method administrating a simple artificial diet added with a test compound which is eluted by an HPLC. 3) A method administrating a simple artificial diet added with a test compound which scratched from TLC. 4) The measurement of electric potential from the mandibular adductor and abductor muscles during insect's feeding behaviour (Frazier, 1986). The method number 2 is a limited method because at least 10 mg test sample is needed for preparing an artificial diet of 1,000 ppm concentration; it is needed many times as well as labour to get a test sample of 10 mg with ordinal analytical HPLC, if there is no HPLC for separation. The method number 3 presents a problem if the TLC is poorly pure and if the test compound from TLC contains contamination such as minor feeding stimulant and/or deterrent. Both 1) and 4) methods also need special techniques for electrophysiology.

Therefore, in the article we describe an explorative method to detect stimulant and/or deterrent in the food based on measurement of mandibular movements different from the conventional actual feeding test or electrophysiological method.

I. Mandibular movements by odourance and taste substances:

Induction of mandibular movements by odourance and taste substances has been investigated for a decade. This stimuli-response reaction is so called "stereotyped behaviour" (Hirao *et al.*, 1976:

* Present address: Dr T. Shimizu, Zennba 380, Isehara, Kanagawa 259-1106, Japan.

Frazier, 1986). Mandibular movements are induced by two routes for odourance reception, the maxillary sensilla basiconica (1-1) and the antenna (1-2).

1-1. Mandibular movements through the maxillary sensilla basiconica by odourance:

There are a few reports on the role of the maxillary sensilla basiconica in some insects (Schnider and Steinbrecht, 1968; Hirao *et al.*, 1976). Hirao *et al.* (1976) report a mandibular biting movement by olfactory information through the maxillary sensilla basiconica on the maxillary palpi in the silkworm, *Bombyx mori*.

Table 1. Morphological and electrophysiological comparisons of *Bombyx mori* and *Spodoptera litura* sensilla styloconica-I.

Tableau 1. Comparaisons morphologiques et électrophysiologiques entre les sensilla styloconica-I de *Bombyx mori* et de *Spodoptera litura*.

Sensilla styloconica-I*				
Species	Length (µm)	Diameter (µm)	Amplitude levels of Impulse to 10 ⁻³ M sucrose (mV)	No. of identified receptor cells ****
<i>Sensilla styloconica-I*</i>				
Espèce	Longueur (µm)	Diamètre (µm)	Niveaux d'amplitude de l'impulsion pour le sucrose à 10 ⁻³ M (mV)	Nbre de cellules réceptrices identifiées ****
<i>B. mori</i>	60	15	0.8**	5
<i>S. litura</i>	50	10	0.8***	4

* The length from the base of the sensilla styloconica-I (lateral) on the maxillary lobe to the tips. / *Partie entre la base des sensilla styloconica-I (latéral) sur le lobe maxillaire et les extrémités.*

The length and diameter of the sensilla styloconica-I in *Bombyx mori* are a little larger than that of *Spodoptera litura*, but amplitude levels of impulses to 10⁻³M sucrose in both insects' sensilla styloconica-I in *Bombyx mori* are the same, and 0.8 mV. / *La longueur et le diamètre des sensilla styloconica-I chez Bombyx mori sont un peu plus grands que ceux de Spodoptera litura, mais les niveaux d'amplitude des impulsions pour le sucrose à 10⁻³M dans les sensilla styloconica des deux insectes sont les mêmes : 0,8mV.*

** Quoted by Yazawa *et al.*, (1992) / *Cité par Yazawa et coll., (1992).*

*** Quoted by Shimizu *et al.*, (1993) / *Cité par Shimizu et coll., (1993).*

**** Quoted by Hirao *et al.*, (1992) / *Cité par Hirao et coll., (1992).*

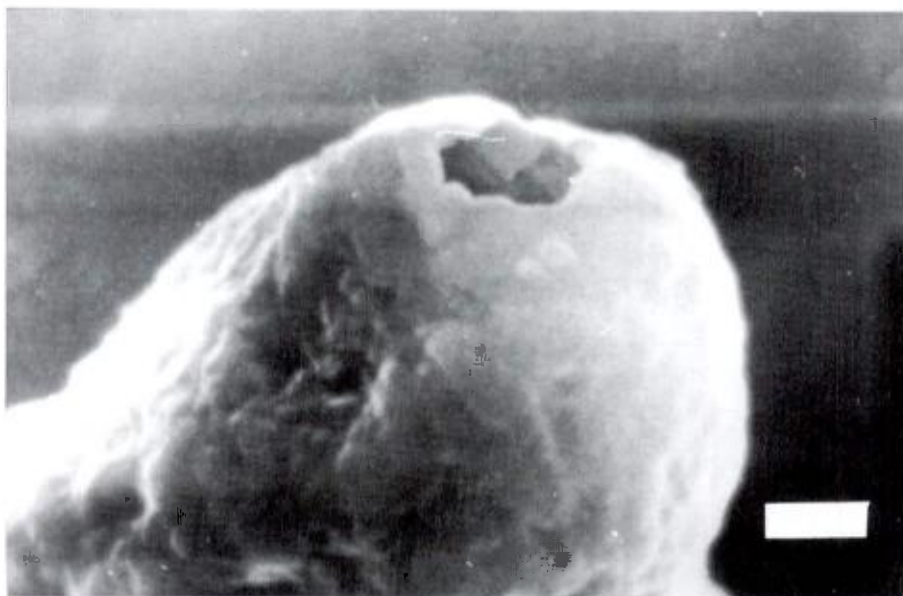


Fig 1. The surface of a tip pore of a sensilla styloconica - 1 in *Bombyx mori*.

Scale bar: 1 μ m.

Fig 1. Surface du pore de l'extrémité d'une sensilla styloconica-1 chez *Bombyx mori*.

Echelle: 1 μ m

1-2. Mandibular movements with odour through the antenna:

I found that food stimulants such as a isothiocyanate evoke mandibular movements of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* in response to the odour stimuli and antennectomized larvae failed to respond to the stimuli of volatile isothiocyanate (Shimizu, unpublished data). There is no report on direct evidence of measured mandibular movements with odour through the antenna.

1-3. Mandibular movements with taste substances and feeding stimulants:

There is a lot of information on mandibular movement with feeding stimulants. Taste substances are sensitive to the sensilla styloconica. In *Bombyx mori*, taste substances are related to the continuation of feeding, but mandibular movements with taste substances are not directly induced through the sensilla styloconica (Hirao and Arai, 1991).

2. Mandibular movements with a drug:

When 1,000 ppm chlordimeform (1 μ g) is applied on the suboesophageal ganglion (SG) or on the mouthparts of final instar larvae, *Mamestra brassicae*, the continuous repetitive burst of mandibular movements (CBMM) is recorded. Rhythmic mandibular movements forced with this drug occur at an average rate of 2.08 ± 0.08 Hz (Shimizu *et al.*, 1981 a, b). Formamidines with 2-methyl substitution on phenol group evoke CBMM (Shimizu *et al.*, 1981 b). There is no chemicals of this type without this drug as far as we know.

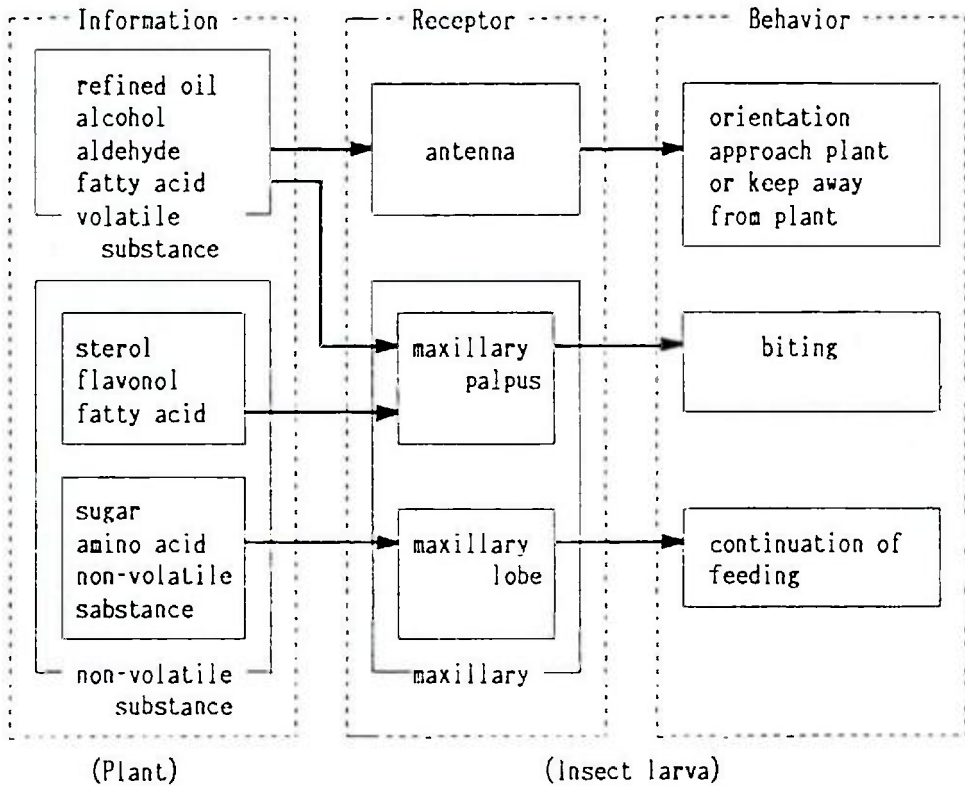


Fig 2. Feeding mechanism in a lepidopterous larva (by Hirao and Arai, 1991).

Fig. 2. Mécanisme d'alimentation chez une larve de lépidoptère (par Hirao et Arai, 1991).

3. Mechanism of mandibular movements—CNS in the control of mandibular movements:

It is very important to understand the mechanism of mandibular movements. The neural substrates of insect mandibular movements have not yet been identified within the central nervous system (Griss *et al.*, 1991). The suboesophageal ganglion is responsible for the control of the mouthparts (Blaney and Simmonds, 1987) and plays an important role in the feeding behaviour (Griss *et al.*, 1991). Cutting the connectives behind the suboesophageal ganglion disinhibits chewing, so that continuous rhythmic mandibular movements occur even in the absence of mechano- or chemo- stimulation of the mouthparts, at an average rate of 1.2 Hz (Griss *et al.*, 1991). The motor neurons of the mandibular muscles have been identified by cobalt backfills of the mandibular nerve, and characterized by intracellular recording and dye injection. It is found that there are 12 closer and 8 opener motor neurons (Griss, 1990).

The frontal ganglion has been implicated in the regulating of the swallowing and the movement of food and water intake (Verret and Mills, 1976) of crop emptying in *Periplaneta americana* (Davey and Treherne, 1963) and in the feeding activity and the growth (in *Locusta migratoria*, Hill *et al.*, 1966; in *Bombyx mori*, Hirao and Shimizu, 1999).

CONCLUSION

It has been well known that the antennae mainly take part in the chemotaxis and the maxillary palpi take part in the facilitation of feeding by activating the biting movement of the mandibles (Fig. 2). However, as described above, I found that food stimulants through the antennae also evoke mandibular movements. Therefore one has to be very careful whether mandible movements are evoked through the antennae or the maxillary palpi. The differences of two types of sensilla are the focal point of the receptive phase of plant kairomone: the antenna functions as a chemoreceptor in long distance, and the maxillary palpi functions only in the short distance. Mandibular biting action is not induced by taste substances rather taste substances are related to the continuation during feeding.

We could isolate an antifeedant glucoside from the traveller's joy, *Clematis peniculata* (Shimizu *et al.*, 1994; 1999) and osmundalin from the royal fern, *Osmunda japonica* (Shimizu and Yazawa, 1993; Shimizu *et al.*, 1993; Shimizu *et al.*, 1995) using both these experimental techniques and experimental insects, *Bombyx mori* and *Mamestra brassicae*.

REFERENCES

- BLANEY W.M., SIMMONDS M.S.J. (1987) Control of mouthparts by the suboesophageal ganglion. In: Arthropod Brain: its Evolution, Development, Structure and Function. Ed. A.P. Gupta, Wiley New York, pp. 303-322.
- DAVEY K.G., TREHERNE J.E. (1963) Studies on crop function in the cockroach (*Periplaneta americana* L.) I. The mechanism of crop emptying. J. exp. Biol., 40:763-773.
- FRAZIER J.L. (1986) The perception of plant allelochemicals that inhibit feeding. In Molecular Aspects of Insect-Plant associations (Eds. LB. Brattsten and S. Ahmad), Plenum pub. corp., pp. 1-42.
- GRISS C. (1990) Mandibular motor neurons of the caterpillar of the hawk moth *Manduca sexta*. J. Comp. Neur., 296:393-402.
- GRISS C., SIMPSON S.J., ROHRBACHER J., ROWELL C.H.F. (1991) Localization in the central nervous system of larval *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) of areas responsive for aspects of feeding behaviour. J. Insect Physiol., 37: 477-482.
- HILL L.O., MORDUE W., HIGHNAM K. C. (1966) The endocrine system, frontal ganglion and feeding during maturation in the female desert locust. J. Insect Physiol., 12: 1197-1208.
- HIRAO T., ARAI N. (1991) On the role of gustatory recognition in host -plant selection by the silkworm, *Bombyx mori* L. Jap. J. Appl. Entomol. Zool., 35:197-206.
- HIRAO T., SHIMIZU T. (1999) The role of the central nervous system in the control of feeding behaviour of the silkworm larva, *Bombyx mori* L. Sericologia, 38: 579-584.
- HIRAO T., YAMAOKA K., ARAI N. (1976) Studies on mechanism of feeding in the silkworm, *Bombyx mori* L. II. Control of mandibular biting movement by olfactory information through maxillary sensilla basiconica. Bull. Sericul. Exp. Sta., 26:385-410.
- HIRAO T., ARAI N., SHIMIZU T., YAZAWA M. (1992) Sensilla styloconica on the maxillary lobe of *Bombyx mori* and *Spodoptera litura*. Sericologia, 32:559-563.
- SCHNIDER D., STEINBRECHT R.A. (1968) Checklist of insect olfactory sensilla. Symp. Zool. Soc. Lond., 23:279-297.
- SHIMIZU T., ASAOKA K. (1999) Responses of maxillary sensilla styloconica in *Bombyx mori* to glucosides from the traveller's joy, *Clematis peniculata*, a nonhost plant. Sericologia, 39: 129-132.
- SHIMIZU T., YAZAWA M. (1993) Osmundalin: antifeedant of a lepidopterous insect, *Bombyx mori*, from the royal fern (*Osmunda japonica*). Sericologia, 33:695-699.
- SHIMIZU T., MATSUZAWA K., FUKAMI J. (1981a) Effect of chlordinform on mandibular movements of the cabbage armyworm (*Mamestra brassicae*). Int. Pest. Cont., 23:102-104.

- SHIMIZU T., MATSUZAWA K., FUKAMI J. (1981b) Effect of chlordimeform and its analogs on mandibular movements of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae*. *App. Ent. Zool.*, 16: 167-169.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., HAYAKAWA S. (1994) Glucoside from the traveller's joy, *Clematis peniculata*, elicits blisters on cultured *Antherae eucalypti* cells and feeding inhibition to *Bombyx mori*. *Sericologia*, 34: 465-472.
- SHIMIZU T., ASAOKA K., NUMATA A. (1995) Osmundalin (lacton glucoside) stimulates receptor cells, associated with detergency of *Bombyx mori*. *Z. Natuforsch*, 50C:463-465.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., HIRAO T., ARAI N. (1993) Responses of maxillary sensilla styloconica in *Bombyx mori* to glucosides from *Osmunda japonica*, a nonhost plant. *J. Chemical Ecol.*, 19:2501-2512.
- VERRET J.M., MILLS R.R. (1976) Water balance during vitellogenesis by the American cockroach: effect of frontal ganglionectomy. *J. Insect Physiol.*, 22: 251-257.
- YAZAWA M., SHIMIZU T., HIRAO T. (1992) Feeding response of the silkworm, *Bombyx mori*, to UV irradiation of mulberry leaves. *J. Chemical Ecol.*, 18:561-569.

METHODE EXPLORATOIRE POUR DETECTER LES ANTIAPPETANTS ET LES STIMULANTS DANS LA NOURRITURE EN UTILISANT *BOMBYX MORI* ET *MAMESTRA BRASSICAE*

T. SHIMIZU*

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fucha,
Tokyo 183 – 8509, Japon.

Nous proposons ici une méthode exploratoire pour détecter les stimulants et/ou les antiappétants dans la nourriture d'après l'étude des mouvements mandibulaires en utilisant *Bombyx mori* et *Mamestra brassicae* (Lepidoptera ; Noctuidae). Des mouvements mandibulaires sont induits par l'acceptation de l'odeur respectivement par les antennes et par les *sensilla basiconica* maxillaires. L'action de mastication mandibulaire n'est pas induite par l'acceptation de substances gustatives. Le mécanisme de contrôle des mouvements mandibulaires s'appuie sur la fonction nerveuse du ganglion suboesophagien (GS) du système nerveux central (SNS), en particulier sur la fonction des moto-neurons sur le muscle mandibulaire dans les GS. Le ganglion frontal (GF) est aussi impliqué dans la régulation de l'activité alimentaire et de la croissance.

Les antiappétants des insectes ont déjà été identifiés chez des plantes mais il est très important pour accélérer cette recherche d'obtenir une analyse biologique fiable. Il existe quatre méthodes d'analyse biologique. 1) La mesure du potentiel électrique des *sensilla styloconica* (Ss) (Fig. 1) pour tester un composant élué par HPLC (Tableau 1). 2) L'administration d'un aliment artificiel simple additionné d'un composant élué par HPLC. 3) L'administration d'un milieu artificiel simple additionné d'un composant extrait d'une TLC. 4) La mesure du potentiel électrique à partir des muscles adducteurs et abducteurs pendant le comportement alimentaire de l'insecte (Frazier, 1986). La méthode no. 2 est limitée parce qu'il faut au moins 10 mg d'échantillon test pour préparer un aliment artificiel à une concentration de 1000 ppm ; on a besoin de nombreuses préparations et de main d'œuvre pour obtenir un échantillon test de 10 mg avec une HPLC analytique, s'il n'y a pas d'HPLC pour la séparation. La méthode no. 3 présente un problème si la TLC n'est pas très pure et si le composant provenant de la TLC est contaminé avec un stimulant et/ou un antiappétant alimentaire mineur. Les méthodes 1 et 4 nécessitent toutes les deux des techniques spéciales d'électrophysiologie.

Nous proposons donc dans cet article une méthode d'exploration pour détecter les stimulants et/ou les antiappétants dans la nourriture d'après la mesure des mouvements mandibulaires différente du test alimentaire classique actuel ou de la méthode d'électrophysiologie.

1. Mouvements mandibulaires induits par les substances odorantes et gustatives :

Des recherches ont été menées depuis une décennie sur l'induction de mouvements mandibulaires avec des substances odorantes et gustatives. La réaction de réponse aux stimuli est appelée " comportement stéréotypé " (Hirao et coll., 1976 ; Frazier 1986). Les mouvements mandibulaires

* Adresse actuelle : Dr T. Shimizu, Zennba 380, Isehara, Kanagawa 259-1106, Japon.

provoqués par la réception d'odeurs sont induits par deux canaux: les sensilla basiconica maxillaires (1-1) et les antennes (1-2).

1-1. Mouvements mandibulaires provoqués par l'odeur via les *sensilla basiconica* maxillaires :

Il existe quelques rapports sur le rôle des *sensilla basiconica* maxillaires chez certains insectes (Schnider et Steinbrecht, 1968; Hirao et coll., 1976). Hirao et coll., (1976) ont rapporté chez le ver à soie *Bombyx mori* un mouvement de morsure mandibulaire issu des *sensilla basiconica* maxillaires suite à une information olfactive.

1-2. Mouvements mandibulaires induits par l'odeur via les antennes :

J'ai montré que les stimulants alimentaires tels que l'isothiocyanate suscitent des mouvements mandibulaires chez la chenille de la leucanie, *Mamestra brassicae* en réponse aux stimuli d'odeurs et que les larves antennectomisées ne répondent pas aux stimuli d'isothiocyanate volatile (Shimizu, données non publiées). Il n'existe pas de rapport sur la preuve directe de mouvements mandibulaires induits par l'odeur via les antennes.

1-3 : Mouvements mandibulaires avec des substances gustatives et des stimulants alimentaires :

Il existe beaucoup d'information sur les mouvements mandibulaires avec des stimulants alimentaires. Les *sensilla styloconica* sont sensibles aux substances gustatives. Chez *Bombyx mori*, les substances gustatives sont liées à l'alimentation, mais les mouvements mandibulaires avec les substances gustatives ne sont pas directement induits par les *sensilla styloconica* (Hirao et Arai, 1991).

2. Mouvements mandibulaires avec une drogue :

Quand on applique 1000 pp. de chlordimeforme (1 µg) sur le ganglion suboesophagien ou sur les parties buccales de larves du dernier âge de *Mamestra brassicae*, on enregistre une vague continue répétitive de mouvements mandibulaires (CBMM). Des mouvements mandibulaires rythmiques forcés par cette drogue se produisent à un rythme moyen de $2,08 \pm 0,08$ Hz (Shimizu et coll., 1981 a, b). Les formamidines avec une substitution de 2-méthyl sur le groupe phénol suscitent des CBMM (Shimizu et coll., 1981 b). A part cette drogue, de telles substances chimiques n'existent pas d'après ce que nous savons.

3. Mécanisme des mouvements mandibulaires – contrôle des mouvements mandibulaires par le système nerveux central :

Il est très important de comprendre le mécanisme des mouvements mandibulaires. Les substrats neuraux des mouvements mandibulaires des insectes n'ont pas encore été identifiés à l'intérieur du système nerveux central (Griss et coll., 1991). Le ganglion suboesophagien est responsable du contrôle des parties buccales (Blaney et Simmonds, 1987) et joue un rôle important dans le comportement alimentaire (Griss et coll., 1991). Quand on coupe les connectifs derrière le ganglion suboesophagien, cela libère la mastication, de sorte que des mouvements mandibulaires rythmiques se produisent même en l'absence de stimulation mécanique ou chimique des parties buccales, à un rythme moyen de 1,2 Hz (Griss et coll., 1991). Les neurones moteurs des muscles mandibulaires ont été identifiés par repérage au cobalt du nerf mandibulaire et ont pu être caractérisés par enregistrement intracellulaire et injection de colorant. Il existe 12 neurones moteurs de fermeture et 8 moteurs neurones d'ouverture (Griss, 1990).

Le ganglion frontal est impliqué dans la régulation de l'action d'avaler et dans le mouvement d'absorption de nourriture et d'eau (Verret et Mills, 1976) et de vidage chez *Periplaneta americana* (Davey et Treherne, 1963) et dans l'activité alimentaire et la croissance (chez *Locusta migratoria*, Hill et coll., 1966 ; chez *Bombyx mori*, Hirao et Shimizu, 1999).

CONCLUSION

On sait que les antennes prennent principalement part dans la chimiotaxie et que les palpes maxillaires facilitent l'alimentation en activant le mouvement de mastication des mandibules (Fig. 2). Cependant, comme nous l'avons décrit plus haut, nous avons observé que les stimulants alimentaires suscitent aussi des mouvements mandibulaires par les antennes. Il faut donc être très prudent pour savoir si les mouvements mandibulaires sont suscités par les antennes ou par les palpes maxillaires. Le point principal est qu'il existe deux types de *sensilla* différents dans la phase réceptrice de kairomone de la plante : l'antenne fonctionne comme un chimio-récepteur à longue distance et les palpes maxillaires ne fonctionnent qu'à courte distance. L'action de mastication mandibulaire n'est pas induite par des substances gustatives, les substances gustatives sont plutôt liées à la continuité d'absorption d'aliments.

Nous avons pu isoler un glucoside antiappétant de la clématite, *Clematis peniculata* (Shimizu et coll., 1994 ; 1999) et de l'osmonde royale, *Osmunda japonica* (Shimizu et Yazawa, 1993 ; Shimizu et coll., 1993 ; Shimizu et coll., 1995) en utilisant ces techniques expérimentales et ces insectes expérimentaux, *Bombyx mori* et *Mamestra brassicae*.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	309
General sericulture	
Mûrier	311
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	317
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	321
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	323
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	329
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : oeufs, embryologie	339
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	341
Silkworms: silk glands	
Soie	343
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) Portuguais / <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

Effect of silkmoth (*Bombyx mori* L.) scales in haematological values of sericulture grainage industry workers in Andhra Pradesh.

Effet des écailles des papillons (*Bombyx mori* L.) sur les paramètres hématologiques chez les travailleurs de l'industrie de grainage séricicole en Andhra Pradesh.

CHATRAPPA B., VENKATAPPA B.

1998 *Pollut. Res.*, Vol. 17(3), 277-279. (E)

Identification of factors influencing sericultural productivity in Malda district of West Bengal.

Identification des facteurs influençant la productivité séricicole dans le district de Malda du Bengale Ouest.

DAS K.K., SAHU P.K., DAS N.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 17-21. (E)

Assessment of improved mulberry varieties under limited irrigation in Purvanchal.

Evaluation des variétés améliorées de mûrier sous irrigation limitée au Purvanchal.

GARGI *et al.*

PSDP, Central Silk Board, Varanasi, Uttar Pradesh, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(11), 15-17. (E)

Eating silk.

Manger de la soie.

HIRABAYASHI K.

1999 *New Food Ind.*, Vol. 41(1), 9-13. (E)

Mechanization in mulberry cultivation.

Mécanisation de la culture des mûriers.

KATHIRVEL K., MANIAN R.

Department of Farm Machinery, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India.

2000 *Indian Silk*, Vol. 38(12), 15-17, 22. (E)

An overview of sericulture industry in Himachal Pradesh.

Une vue d'ensemble de l'industrie de la sériciculture en Himachal Pradesh.

KULSHRETHA A.K.

Deputy Director of Industries, Palampur, Himachal Pradesh.

2000 *Indian Silk*, Vol. 38(12), 5-9. (E)

An empirical investigation on labour productivity in mulberry sericulture.

Une recherche empirique sur la productivité du travail dans la sériciculture "mûrier".

LAKSHMANAN S. *et al.*

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

1999 Indian J. Seric., Vol. 38(1), 48-52. (E)

Tasar culture in Maharashtra.

Elevage de Tasar au Maharashtra.

MATHUR S.K. *et al.*

RTRS, Bhandara, India.

2000 Indian Silk, Vol. 39(1), 16-18. (E)

Studies on the extent of application of inputs in mulberry and their role in production in rainfed traets of Chamarajanagar, Karnataka.

Etudes sur l'étendue de l'application d'intrans chez les mûriers et leur rôle dans la production des régions non irriguées de Chamarajanagar, Karnataka.

MISHRA R.K. *et al.*

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

1999 Indian J. Seric., Vol. 38(1), 72-74. (E)

Mûrier

Mulberry

Field evaluation of a somaclonal variant, (SV1) developed from *Morus alba* variety S1.

Évaluation en champ d'un clone (SV1) développé à partir de la variété S1 de *Morus alba*.

CHAKRABORTI S.P. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 69-71. (E)

Effect of various fractions extracted from mulberry leaves on lipid metabolism in rabbit fed a cholesterol diet.

Effet des diverses fractions extraites des feuilles de mûrier sur le métabolisme des lipides chez les lapins soumis à un régime cholestérol.

DOI K. *et al.*

1999 *Nippon Eiyo, Shokuryo Gakkaishi*, Vol. 52(2), 85-90.

Constituents of *Morus multicaulis* roots.

Constituants des racines de *Morus multicaulis*.

FERRARI F. *et al.*

1999 *Fitoterapia*, Vol. 69(6), 554-555. (E)

Comparison between *in vivo* and *in vitro* metabolite production of *Morus nigra*.

Comparaison entre la production de métabolites *in vivo* et *in vitro* chez *Morus nigra*.

FERRARI F., MONACELLI B., MESSANA I.

1999 *Planta Med.*, Vol. 65(1), 85-87. (E)

Development of a model for predicting the dry matter production of mulberry based on meteorological factors.

Développement d'un modèle pour prévoir la production de matière sèche chez le mûrier basé sur les facteurs météorologiques.

FUKUI K., ITO D.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki, 305-8634, Japan.

1999 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 22, 1-22. (J,e)

Comparative study of some varieties of mulberry trees (*genus Morus*) by the method of isoelectric focusing.

Étude comparative des variétés de mûriers (*genus Morus*) par électrofocalisation.

GIGOLASHVILI G., DALALISHVILI T., JOKHADZE D.

1998 *Bull. Georgian Acad. Sci.*, Vol. 157(3), 497-499. (E)

Soil solarization for the control of nursery diseases in mulberry.

Solarisation du sol pour le contrôle des maladies dans les pépinières de mûriers.

GUPTA V.P. *et al.*

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

1999 *Indian J. Seric., Vol. 38(1), 44-47. (E)*

Late stage of biosynthesis of intermolecular Diels-Alder type adducts in *Morus alba* L. cell cultures.

Stade tardif de biosynthèse de l'adduit de Diels-Alder chez les cellules cultivées de *Morus alba* L.

HANO Y., NOMURA T., UEDA S.

1999 *Heterocycles, Vol. 51(2), 231-235. (E)*

Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*.

Purification et propriétés de l'uréase de la feuille de mûrier, *Morus alba*.

HIRAYAMA C., SUGIMURA M., SAITO H., NAKAMURA M.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ibaraki, Japan.

2000 *Phytochemistry, Vol. 53(3), 325-330. (E)*

The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.

La détermination des teneurs en flavonoïdes chez les mûriers et leurs effets d'épuration sur les radicaux superoxydes.

JIA Z., TANG M., WU J.

1999 *Food Chem., Vol. 64(4), 555-559. (E)*

Role of *Trichogramma chilonis* Ishii in the suppression of field populations of the Bihar hairy caterpillar, *Spilarchia obliqua* Walker.

Rôle de *Trichogramma chilonis* Ishii dans la suppression des populations de la chenille velue, *Spilarchia obliqua* Walker dans les champs du Bihar.

KATIYAR R.L. *et al.*

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

1999 *Indian J. Seric., Vol. 38(1), 40-43. (E)*

Purification and characterization of Moran 20K from *Morus alba*.

Purification et caractérisation de Moran 20K de *Morus alba*.

KIM E.S. *et al.*

1999 *Arch. Pharmacol. res., Vol. 22(1), 9-12. (E)*

A novel phytoalexin formed in mulberry leaves at the infection of *Phloeospora maculans*, causal agent of leaf spot.

Une nouvelle phytoalexine formée dans les feuilles de mûrier au point d'infection par *Phloeospora maculans*, l'agent causal des cloques des feuilles.

KIM K.H., MATSUYAMA N.

1998 *J. Fac. Agric. Kyushu Univ., Vol. 43(1/2), 89-93.*

Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*.

Flavonoïdes antioxydantes des feuilles de *Morus alba*.

KIM S.Y. *et al.*

1999 *Arch. Pharmacol. Res., Vol. 22(1), 81-85. (E)*

Chemistry and biological activities of constituents from *Morus australis*.

Chimie et activités biologiques des constituants de *Morus australis*.

KO H.H. *et al.*

1999 *Biochem. Biophys. Acta., Vol. 1428(2/3), 293-299. (E)*

Screening mulberry (*Morus spp.*) genotypes for adventitious bud formation and plant regeneration from immature leaf culture.

Criblage de génotypes de mûrier (*Morus spp.*) pour la formation de bourgeons adventifs et la régénération de plantes à partir de cultures de feuilles immatures.

MACHII H.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 479-489. (E)

Diurnal changes in leaf Fe in maize and mulberry.

Variations diurnes de la teneur en fer des feuilles de maïs et de mûrier.

MEHROTRA S.C. *et al.*

1998 *Indian J. Agric. Biochem.*, Vol. 11(1), 27-29. (E)

Production of myrotoxin B by *Myrothecium roridum* isolated from Myrothecium leaf spot of mulberry in Japan.

Production de myrotoxine B par *Myrothecium roridum* isolé à partir de la maladie de la tache des feuilles de mûrier au Japon.

MURAKAMI R. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2, Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 469-477. (E)

Mulberry leaf tea and the prevention of lifestyle-related diseases.

Thé aux feuilles de mûrier et prévention des maladies relatives au style de vie.

NODA S.

1999 *Jpn. Fudo Saiensu*, Vol. 38(2), 24-31.

Studies on the optically active Diels-Alder type adducts from mulberry tree.

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

NOMURA T.

1998 *Int. Congr. Ser.*, Vol. 1157, 379-390. (E)

Induction of hairy roots from hypocotyls of mulberry (*Morus indica* L.) by japanese wild strains of *Agrobacterium rhizogenes*.

Induction de racines poilues chez des hypocotyles de mûrier (*Morus indica* L.) par des lignées japonaises sauvages d'*Agrobacterium rhizogenes*.

OKA S., TEWARY P.K.

National Institute of Agrobiological Resources, 2-1-2, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 13-19. (E,j)

Sialic acid binding lectins from leaf of mulberry (*Morus alba*).

Lectines fixant l'acide sialique des feuilles de mûriers (*Morus alba*).

RATANAPO S. *et al.*

1998 *Plant. Sci.*, Vol. 139(2), 141-148. (E)

Present status of the thrips infesting mulberry.

Connaissances actuelles sur les thrips infestant les mûriers.

REDDY D.N.R., NARAYANASWAMY K.C.

Department of Sericulture, College of Agriculture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore 560 065, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 1-7. (E)

Glycel: an effective weedicide in mulberry cultivation.

Glycel : un désherbant efficace pour la culture du mûrier.

RÉDDY M.P., SRINATH B., SURYANARAYANA N.

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Anantapur, India.

2000 *Indian Silk*, Vol. 39(1), 8-9. (E)

Growth attributes of mulberry (*Morus alba*) as influenced by plant growth regulators.

Caractéristiques de croissance des mûriers (*Morus alba*) influencées par des régulateurs de croissance de plante.

SETUA M. *et al.*

1998 *Indian J. Agron.*, Vol. 43(2), 355-357. (E)

Compatibility of certain biocontrol agents with chemical pesticides and fertilizers.

Compatibilité de certains agents de biocontrôle avec des pesticides et des engrais chimiques.

SHARMA D.D., GUPTA V.P., CHANDRASHEKAR D.S.

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 79-82. (E)

Changes in physiological and biochemical parameters of promising mulberry (*Morus indica* L.) under water stress condition.

Changements des paramètres biochimiques et physiologiques de mûriers prometteurs (*Morus indica* L.) sous des conditions de stress hydrique.

SINGHAL B.K.

1998 *Philipp. J. Sci.*, Vol. 127(4), 277-280.

Sunhemp - A green manure for mulberry.

Sunhemp - Un engrais naturel pour les mûriers.

SINHA K.K. *et al.*

Regional Sericultural Research Station, Koraput, India.

2000 *Indian Silk*, Vol. 38(11), 12-14. (E)

Incidence, severity and yield loss due to leaf spot of mulberry caused by *Cercospora moricola*.

Incidence, sévérité et perte de rendement liés à la maladie des feuilles de mûrier causée par *Cercospora moricola*.

SRIKANTASWAMY K., GUPTA V.P., RENUKESWARAPPA J.P.

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 8-11. (E)

Relative efficiency of different nitrogenous fertilizers on mulberry leaf yield and quality.

Efficacité relative de différents engrais azotés sur le rendement et la qualité des feuilles de mûrier.

SUBBASWAMY M.R. *et al.*

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 62-63. (E)

Calcium deposition in idioblasts of mulberry leaves.

Dépôt de calcium dans les idioblastes des feuilles de mûriers.

SUGIMURA Y. *et al.*

1999 *Ann. Bot.*, Vol. 83(5), 543-550. (E)

Major improvements in gene delivery into mulberry leaf cells by particle inflow gun.

Améliorations majeures dans l'introduction de gènes dans les cellules de feuilles de mûrier par l'utilisation d'un canon à particules.

SUGIMURA Y. *et al.*

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Goshokaido, Matsugasaki, Sakyo, Kyoto 606-0962, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 39-45. (E,j)

Breeding of a new mulberry variety 7946.

Production d'une nouvelle variété de mûrier 7946.

SUN R. *et al.*

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 45-47. (C)

Fertility status of mulberry growing soils in Mysore seed area, Karnataka.

Fertilité des sols des plantations de mûriers dans la zone de production de graines de Mysore, Karnataka.

THIMMAREDDY H., PRABHURAJ D.K., BONGALE U.D., DANDIN S.B.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore 560 062, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 26-29. (E)

Accumulation of small heat-shock protein homologs in the endoplasmic reticulum of cortical parenchyme cells in mulberry in association with seasonal cold acclimatation.

Accumulation de petites protéines homologues des Protéines de Choc Thermique dans le réticulum endoplasmique des cellules du parenchyme cortical chez le mûrier, en association avec l'acclimatation à la saison froide.

UKAJI N. *et al.*

1999 *Plant Physiol.*, Vol. 120(2), 481-489. (E)

Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. cultivar M-5) through in vitro culture of nodal explants.

Propagation clonale de mûrier (*Morus indica* L. cultivar M-5) par la culture in vitro d'explants nodaux.

VIJAYA CHITRA D.S., PADMAJA G.

1999 *Sci. Hort.*, Vol. 80(3/4), 289-298. (E)

Effect of foliar application of micronutrients on growth, yield and quality parameters of mulberry.

Effet de l'application foliaire de micronutriments sur la croissance, le rendement et les paramètres de qualité des mûriers.

VISWANATH G.K., JAYARAMAIAH M., SHANKAR M.A.

1997 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 31(3), 209-212. (E)

Effect of the special insecticide Sangchongqing on control of mulberry looper.

Effet de l'insecticide spécial, Sangchongqing sur le contrôle de l'arpeuteuse des mûriers.

WU F. *et al.*

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 51-52. (C)

Changes of endogenous hormones on tissue culture of hypocotyl of mulberry.

Variations des hormones endogènes dans les hypocotyles de mûrier en culture.

ZHANG H., ZHAO Z.

Department of Sericulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 1-4. (C,e)

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

Preliminary study on the infectivity of the chemical-mutated *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) to silkworm cells and larvae.

Etude préliminaire sur l'infection par le virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) de *Bombyx mori* muté chimiquement des cellules et des larves de ver à soie.

GE C. *et al.*

Department of Sericulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 27-33. (C,e)

Nucleotide sequences of genome segments 6 and 7 of *Bombyx mori* cyopovirus 1, encoding the viral structural proteins V4 and V5, respectively.

Séquences nucléotidiques des segments 6 et 7 du génome du cyopovirus 1 de *Bombyx mori*, codant respectivement pour les protéines structurales virales V4 et V5.

HAGIWARA K., MATSUMOTO T.

Venture Laboratory, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan.

2000 *J. Gen. Virol.*, Vol. 81(4), 1143-1147. (E)

Analysis of proteins encoded in the bipartite genome of a new type of parvo-like virus isolated from silkworm - structural protein with DNA polymerase motif.

Analyse de protéines codées dans le génome bipartite d'un nouveau type de virus de type parvo isolé à partir de vers à soie. Protéine structurale avec un motif d'ADN polymérase.

HAYAKAWA T. *et al.*

Division of Applied Bioscience, faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Hokkaido, Japan.

2000 *Virus Res.*, Vol. 66(1), 101-108. (E)

Study on structure of insect cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV).

Etude de la structure du virus de la polyédrose cytoplasmique (CPV) chez les insectes.

LU X., YU X., ZHANG Q., ZHANG J.

1998 *Electron Microscop.*, Proc. Int. Congr., 425-426. (E)

Combining ability analysis over environments in diallel crosses of bivoltine silkworm.

Analyse de l'aptitude à la combinaison par des croisements dialléliques de vers à soie bivoltins.

MALIK G.N., MASOODI M.A., KAMILI A.S., AIJAZ M.

Division of Sericulture, S. K. University of Agricultural Sciences and Technology, Post Box 674, G.P.O., Srinagar 190 000, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 22-25. (E)

Field evaluation of isolation chamber for young age silkworm rearing.

Évaluation sur le terrain de chambres d'isolation pour l'élevage des jeunes vers à soie.

MUNIRAJU E., SEKHARAPPA B.M., RAGHURAMAN R.

Karnataka State Sericultural Research and Development Institute, Bangalore 560 062, India.

1999 Indian J. Seric., Vol. 38(1), 12-16. (E)

Role of temperature on leaf to silk conversion silkworm *Bombyx mori* L.

Rôle de la température des feuilles sur la conversion en soie par le ver à soie *Bombyx mori* L.

MUNIRAJU E., SEKHARAPPA B.M., RAGHURAMAN R.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore 560 062, India.

2000 Indian Silk, Vol. 39(1), 5-7. (E)

Development of the measurement system of the cocoon size and variation.

Développement du système de mesure de la taille des cocons et de sa variation.

NAKAJIMA K.I. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-4-8 Gohda, Okaya, Nagano, 394-0021, Japan.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(6), 501-505. (J,e)

High temperature stress on certain aspects of protein metabolism in the hemolymph, fat body, silk gland and on larval developmental period, body weight and economic characters of silkworm, *Bombyx mori* L.

Stress dû à la haute température sur certains aspects du métabolisme des protéines dans l'hémolymphe, le corps adipeux, la glande séricigène et sur la période de développement larvaire, le poids du corps et les caractères économiques du ver à soie, *Bombyx mori* L.

NATH B.S. *et al.*

1997 Philipp. J. Sci., Vol. 126(4), 333-347. (E)

Disinfection: a simple method to find out strength of bleaching powder.

Désinfection : une méthode simple pour révéler la puissance de la javel en poudre.

PRASAD N.R. *et al.*

Karnataka State Sericulture Research and Training Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore 560 062, India.

2000 Indian Silk, Vol. 38(12), 13-14. (E)

Assessment of cocoon crop loss due to leaf spot disease of mulberry.

Évaluation des pertes de cocons liées à la maladie de la tache des feuilles de mûrier.

QADRI S.M.H. *et al.*

Zonal Silkworm Seed Production Office, Vikas Deep 22, Station Road, Lucknow 226 001, India.

1999 Indian J. Seric., Vol. 38(1), 35-39. (E)

Virus inactivating protein RFP.

La protéine RFP inactivant les virus.

RACHAPPA V.

UAS, Dharwad, India.

2000 Indian Silk, Vol. 38(12), 11-12. (E)

Characterization of *Bacillus thuringiensis* varieties in relation to pathogenicity to silkworm, *Bombyx mori*.

Caractérisation des variétés de *Bacillus thuringiensis* en relation avec leur pathogénicité vis à vis du ver à soie, *Bombyx mori*.

SELVAKUMAR T., NATARAJU B., DATTA R.K.

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 75-78. (E)

Effect of nitrogen and phosphorus incorporation at 2:1 ratio on yield of mulberry leaves, its quality and cocoon yield.

Effet de l'incorporation d'azote et de phosphore dans le rapport 2:1 sur le rendement en feuilles de mûrier, leur qualité et le rendement en cocons.

SUBBASWAMY M.R. *et al.*

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 60-61. (E)

Formulation of the relationship between rearing temperature and growth rate in 4th and 5th instar larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, and their low development threshold temperature.

Formulation de la relation entre la température d'élevage et la vitesse de croissance aux 4ème et 5ème stades larvaires chez le ver à soie, *Bombyx mori*, et leur seuil de développement à basse température.

SUDO M., FUJIWARA Y., HORIE Y.

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, Iikura, Ami-machi, Inashiki, Ibaraki 300-0324, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 461-468. (J,e)

A preliminary report of the experiment on one feeding a day with standing mulberry shoots.

Un rapport préliminaire sur l'usage d'un seul nourrissage par jour avec des rameaux de mûrier.

SUN P. *et al.*

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 59-62. (C)

Feed conversion efficiency of improved multi x bivoltine hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L.

Efficacité de conversion des aliments chez des hybrides améliorés multi x bivoltins de ver à soie,

Bombyx mori L.

TRIVEDY K., SASHINDRAN NAIR K.

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

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 30-34. (E)

Determination and nutritional evaluation of trace elements in silkworm excrement.

Détermination et évaluation nutritionnelle des éléments trace dans les excréments de ver à soie.

XU G., LU M., XIE Z.

1998 *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue*, Vol. 5(10), 64-65. (E)

Breeding of the polyphagous silkworm race with thin cocoon filament "Honobono".

Breeding de la race de ver à soie polyphage Honobo produisant un filament de soie fin.

YAMAMOTO T. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Matsumoto, Nagano 390-0812, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 31-37. (J,e)

Raman spectroscopic study on the structure of RNA of cytoplasmic polyhedrosis virus of silkworm photodamaged with hypericin.

Etude spectroscopique Raman de la structure de l'ARN du virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie photo-endommagé avec l'hypericine.

YANG H. *et al.*

1998 *Asian J. Spectroscop.*, Vol. 2(3), 131-136. (E)

Comparison of empty virus and intact virus of cytoplasmic polyhedrosis virus.

Comparaison entre le virus vide et le virus intact de la polyédrose cytoplasmique.

YU X. *et al.*

1998 *Electron Microscop. Proc. Int. Congr. 14th, Vol. 4, 405-406. (E)*

Studies on the special fertilizer of mulberry field for parent silkworm rearing.

Etudes sur l'engrais spécial des champs de mûriers utilisés pour l'élevage de vers à soie reproducteurs.

ZHAO W. *et al.*

2000 *Canye Kexue, Vol. 26(1), 48-50. (C)*

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Determination of suitable age for cold treatment for the extension of pupal diapause in tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury.

Détermination d'un âge approprié pour le traitement au froid afin d'étendre la diapause chez le ver à soie tropical tasar, *Antheraea mylitta* Drury.

OJHA N.G. *et al.*

Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi 835 303, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 64-68. (E)

Fabrication and testing of an improved oviposition device for silkworm, *Antheraea mylitta* Drury (*Lepidoptera: Saturniidae*).

Fabrication et test d'un dispositif amélioré d'oviposition pour le papillon, *Antheraea mylitta* Drury (*Lepidoptera: Saturniidae*).

OJHA N.G. *et al.*

Regional Tasar Research Station, Dumka 841 101, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 56-59. (E)

A new technology for female moth preservation in tasar grainage.

Une nouvelle technologie pour la conservation des papillons femelles pour le grainage de Tasar.

PRASAD B.C. *et al.*

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, Bihar, India.

2000 *Indian Silk*, Vol. 39(1), 15, 24. (E)

Studies on induced mating and its suitable timing for *Antheraea mylitta* D. (*Lepidoptera: Saturniidae*).

Études sur le moment opportun de l'accouplement provoqué pour *Antheraea mylitta* D. (*Lepidoptera: Saturniidae*).

RATH S.S., SINHA B.R.R.P., SINHA S.S.

Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi 835 303, India.

1999 *Indian J. Seric.*, Vol. 38(1), 53-55. (E)

Nutritional status in morphovariants of Som.

Etats nutritifs chez des morphovariants de Som.

SIDDIQUI A.A. *et al.*

ZSSPO, Lucknow, India.

2000 *Indian Silk*, Vol. 38(12), 18-22. (E)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

High-level expression of canine parvovirus VP2 using *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus vector.

Expression élevée du parvovirus canin VP2 obtenue en utilisant le virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* comme vecteur.

CHOI J.Y. *et al.*

Division of Applied Biology and Chemistry, Seoul National University, Suwon, Korea.

2000 *Arch. Virol.*, Vol. 145(1), 171-177. (E)

Study on genetics of the natural mutant new-stone silkworm, *Bombyx mori*.

Étude génétique du mutant naturel new-stone chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

DAI F. *et al.*

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 53-55. (C)

Transcription of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus p39 gene in *Bombyx mori* cell culture.

Transcription du gène p39 du virus de la polyédrose nucléaire d'*Autographa californica* dans des cellules en culture de *Bombyx mori*.

DEMIRBAG Z.

1998 *Turk. J. Biol.*, Vol. 22(2), 153-159. (E)

Microcarrier cultivation of silkworm Bm N cell and high level expression of Hbe Ag gene.

Micro-culture de cellules Bm N de ver à soie et expression élevée du gène Hbe Ag.

DENG X. *et al.*

1998 *Zhongguo Bingduxue*, Vol. 13(3), 237-242.

Construction of bi-shuttle vector for *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus and expression of a GFP/HNeAg fusion protein.

Construction d'un vecteur bi-navette pour le virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* et expression d'une protéine de fusion GFP/HNeAg.

DENG X., ZHU Y., DIAO Z., QI Y.

1999 *Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kaxueban*, Vol. 36(1), 99-104.

Isolation of a cDNA encoding a CHH-family peptide from the silkworm *Bombyx mori*.

Isolément d'un ADNc codant pour un peptide de la famille CHH chez le ver à soie *Bombyx mori*.

ENDO H., NAGASAWA H., WATANABE T.

Laboratory of Molecular Biology of Marine Organisms, The University of Tokyo, 1-15-1 Minamidai, Nakano, Tokyo, Japan.

2000 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 30(5), 355-361. (E)

Molecular characterization of a stably transformed *Bombyx mori* cell line: identification of alternative transcriptional initiation sites of the A3 cytoplasmic actin gene.

Caractérisation moléculaire d'une lignée cellulaire stable transformée de *Bombyx mori*: identification de sites d'initiation transcriptionnelle alternatifs du gène d'actine cytoplasmique A3.

FATYOL K. *et al.*

1998 *Mol. Gen. Genet.*, Vol. 260, 1-8. (E)

Production of chimeric antibody in cells and larvae of silkworm.

Production d'anticorps chimériques chez des cellules et des larves de ver à soie.

GANZHEN Y., XIANGFU W., JIAN L., ZHONGHUA Z.

Shanghai Institute of Biochemistry, Chinese Academy of Sciences, China.

1999 *Chin. J. Biotechnol.*, Vol. 15(1), 37-42. (E)

Cloning and sequence analysis of diapause hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide (DM-PBAN) gene promoter of *Bombyx mandarina*.

Clonage et analyse de la séquence des promoteurs des gènes de l'hormone de diapause et du neuropeptide (DM-PBAN) activant la biosynthèse de la phéromone de *Bombyx mandarina*.

GONG P., XU W.

1998 *Zhongguo Kexue Jishu Daxue Xuebao*, Vol. 28(4), 446-449.

Analysis of DNA polymorphism in silkworm genomic DNA selective amplification of DNA fragments (SADF).

Analyse du polymorphisme de l'ADN dans des fragments d'ADN (SADF) génomique de ver à soie sélectivement amplifiés.

HE N., LU C., ZHOU Z., XIANG Z.

1998 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Jinzhan*, Vol. 25(6), 563-565.

Construction of linkage maps of the silkworm *Bombyx mori*, using RAPD markers.

Construction de cartes de liaison chez le ver à soie *Bombyx mori*, utilisant les marqueurs RAPD.

HWANG J.S., *et al.*

1998 *Korean J. Genet.*, Vol. 20(2), 147-153.

Gene introduction into silkworm embryos with a pseudotyped retroviral vector.

Introduction de gènes dans les embryons de ver à soie avec un vecteur pseudotypé rétroviral.

KOMOTO N. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Owashi, Tsukuba 305-8634, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 55-61. (E,j)

Hepatitis B virus gene expression in *Bombyx mori* cells and application of HBeAG.

Expression du gène du virus de l'hépatite B dans les cellules de *Bombyx mori* et application de HBeAG.

LI B. *et al.*

1998 *Zhangguo Gonggong Weisheng Xuebao*, Vol. 17(4), 219-220.

Independent evolution of Toll and related genes in insects and mammals.

Evolution indépendante de Toll et des gènes apparentés chez les insectes et les mammifères.

LUO C., ZHENG L.

Yale University School of Medicine, Epidemiology and Public Health, 60 College Street, New Haven, CT 06520, USA.

2000 *Immunogenetics*, Vol. 51(2), 92-98. (E)

Comparison of *Bombyx mori* and *Helicoverpa armigera* cytoplasmic actin genes provides clues to the evolution of actin genes in insects.

La comparaison des gènes d'actine cytoplasmique de *Bombyx mori* et de *Helicoverpa armigera* fournit des clés de l'évolution des gènes d'actine chez les insectes.

MANGE A., PRUDHOMME J.C.

1999 *Mol. Biol. Evol.*, Vol. 16, 165-172. (E)

Studies on the chromosome structure and its variation of China mulberry wild silkworm.

Etudes sur la structure des chromosomes et ses variations chez le ver à soie chinois sauvage.

MENG Z., XU J.

Department of Sericulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 5-9. (C,e)

Identification of Baculovirus protein binding preferentially to single stranded DNA and capable of melting DNA duplex.

Identification de protéine de Baculovirus liant de préférence les ADN simples brins et capable de fondre un ADN duplex.

MIKHAILOV V.S., XIN K.Q., MAEDA S.

1998 *Dokl. Akad. Nauk.*, Vol. 361(3), 405-408.

A novel tripartite structure comprising a mariner-like element and two additional retrotransposons found in the *Bombyx mori* genome.

Une nouvelle structure tripartite comprenant un élément de type mariner et deux rétrotransposons additionnels trouvée dans le génome de *Bombyx mori*.

NAKAJIMA Y. *et al.*

1999 *J. Mol. Evol.*, Vol. 48(5), 577-585. (E)

Geographic dimorphism of the wild silkworm, *Bombyx mandarina*, in the chromosome number and the occurrence of a retroposon-like insertion in the arylphorin gene.

Dimorphisme géographique du ver à soie sauvage, *Bombyx mandarina*, dans le nombre de chromosome et la présence d'une insertion de type rétoposon dans le gène de l'arylphorine.

NAKAMURA T. *et al.*

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

1999 *Genome*, Vol. 42(6), 1117-1120. (E)

Transposon K1.4 can increase the integration frequency of luciferase gene in the transgenic silkworm, *Bombyx mori*.

Le transposon K1.4 peut augmenter la fréquence d'intégration du gène de la luciférase chez le ver à soie transgénique, *Bombyx mori*.

QIAN X., ZHOU C., LI Z.

1998 *Zhongguo Kexue Jishu Daxue Xuebao*, Vol. 28(6), 710-713.

Microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: abundance, polymorphism, and strain characterization.

Microsatellites chez le ver à soie, *Bombyx mori* : abondance, polymorphisme et caractérisation des souches.

REDDY K.D., ABRAHAM E.G., NAGARAJU J.

Seribiotech Research Laboratory, Bangalore, India.

1999 *Genome*, Vol. 42(6), 1057-1065. (E)

Genetic characterization of the silkworm *Bombyx mori* by simple sequence repeat (SSR)-anchored PCR.

Caractérisation génétique du ver à soie *Bombyx mori* par simples séquences PCR répétées (SSR).
REDDY K.D., NAGARAJU J., ABRAHAM E.G.

Seribiotech Research Laboratory, Central Silk Board, No.8, West of Chord Road, Bangalore 560 086, India.

1999 *Heredity*, Vol. 83(6), 681-687. (E)

The potential role of a late gene expression factor, *lef 2*, from *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus in very late gene transcription and DNA replication.

Le rôle potentiel d'un facteur d'expression de gène tardif, *lef 2*, du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* dans la transcription et la réplication de l'ADN d'un gène très tardif.

SRIRAM S., GOPINATHAN K.P.

1998 *Virology*, Vol. 251(1), 108-122. (E)

Molecular genetics. Spider genes reveal flexible design.

Génétique moléculaire. Les gènes d'araignée révèlent un schéma flexible.

STOKSTAD E.

2000 *Science*, Vol. 287(5457), 1378. (E)

Transgenic silkworm: present situation and future.

Ver à soie transgénétique : situation présente et future.

TAMURA T.

Laboratory of Gene Engineering, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 1-12. (J)

Genetic analysis of effects of *sch* and *od* genes on quantitative traits in silkworm (*Bombyx mori* L.).

Analyse génétique des effets des gènes *sch* et *od* sur les caractères quantitatifs chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.).

TAN Y., LU C., XIAN Z.

The Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 10-15. (C,e)

Screening and cloning of RAPD marker of Longjiao gene (K) in silkworm.

Criblage et clonage de marqueurs RAPD du gène Longjiao (K) chez le ver à soie.

WANG L., ZHOU Z., DAI F., LU C., XIANG Z.

The Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 16-19. (C,e)

The use of glucose to regulate pH values of culture media and increase the production of baculovirus (BmNPV) and foreign protein (HBsAg).

L'utilisation de glucose pour réguler les valeurs de pH des milieux de culture et augmenter la production de baculovirus (BmNPV) et de protéine étrangère (HBsAg).

WANG S. *et al.*

1999 *Process Biochem*, Vol. 34(3), 295-301. (E)

Mariner (Mos1) transposase and genomic integration of foreign gene sequences in *Bombyx mori* cells.

Transposase de mariner (Mos1) et intégration génomique de séquences de gènes étrangers dans les cellules de *Bombyx mori*.

WANG W., SWÉVERS L., IATROU K.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Calgary, Canada.

2000 Insect Mol. Biol., Vol. 9(2), 145-155. (E)

Construction and characterization of bacterial artificial chromosome libraries from the silkworm, *Bombyx mori*.

Construction et caractérisation de bibliothèques de chromosomes artificiels bactériens de ver à soie, *Bombyx mori*.

WU C. *et al.*

1999 Mol. Gen. Genet., Vol. 261(4/5), 698-706. (E)

Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding a transferrin homolog from *Bombyx mori*.

Clonage moléculaire et caractérisation d'un ADNc codant un homologue de la transferrin chez *Bombyx mori*.

YUN E.Y. *et al.*

Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea.

1999 Biol. Chem., Vol. 380(12), 1455-1459. (E)

Fluorescent transgenic silkworms.

Vers à soie transgéniques fluorescents.

ZHANG F. *et al.*

1999 Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao, Vol. 31(2), 119-123.

Transformation of silkworm with gene for antinuclear polyhedrosis virus ribozyme.

Transformation de ver à soie avec le gène de ribozyme du virus de la polyédrose antinucléaire.

ZHANG F. *et al.*

1999 Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao, Vol. 31(3), 331-333.

A rapid isolation method of silkworm (*Bombyx mori*) genomic DNA.

Une méthode d'isolement rapide de l'ADN génomique de ver à soie (*Bombyx mori*).

ZHAO Q. *et al.*

2000 Canye Kexue, Vol. 26(1), 63-64. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Synergic action of norfloxacin and glycine supplementation on the growth and productivity of *Bombyx mori*.

Action synergique du supplément en norfloxacine et en glycine sur la croissance et la productivité de *Bombyx mori*.

ALAGUMALAI K., KARMEGAN N., DANIEL T.
1999 *J. Ecobiol.*, Vol. 11(1), 19-22. (E)

Down regulation of the cAMP signal transduction cascade in the prothoracic gland is responsible for the fenoxycarb-mediated induction of permanent 5th instar larvae in *Bombyx mori*.

La régulation avale de la cascade de transduction induite par l'AMP cyclique dans la glande prothoracique est responsable de l'induction d'un cinquième stade larvaire permanent chez *Bombyx mori* obtenu par l'intermédiaire du fenoxycarbe.

DEDOS S.G., FUGO H.
1999 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 29(8), 723-729. (E)

Pheromone-producing cells in the silkworm, *Bombyx mori*: identification and their morphological changes in response to pheromone stimuli.

Cellules produisant de la phéromone chez le papillon de *Bombyx mori* : identification et leurs changements morphologiques en réponse à des stimuli phéromonotropiques.

FONAGY A. *et al.*
Molecular Entomology and Baculovirology, The Institute of Physical and Chemical Research, Hirose 2-1, Wako-shi, Saitama, China.

2000 *J. Insect Physiol.*, Vol. 46(5), 735-744. (E)

Expression of genes induced by ecdysteroid during wing disk development of wingless (fl) mutant of the silkworm.

Expression de gènes induits par ecdystéroïde pendant le développement des disques alaires des mutants sans ailes de ver à soie.

FUJIWARA H., MATSUOKA T., KAMIMURA M.
1997 *Adv. Comp. Endocr., Proc. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol.*, Vol. 1, 175-179. (E)

Cholesterol cycle during development of normal and non-spinning *Bombyx mori* L. (Lep., Bombycidae) larvae.

Cycle du cholestérol pendant le développement de la larve normale et non fileuse de *Bombyx mori*.

GIRGENTI P. *et al.*
1998 *J. Appl. Entomol.*, Vol. 122(9/10), 533-536. (E)

Regulation of prothoracicotropic hormone transduction during the early last larval instar of *Bombyx mori*.

Régulation de la transduction de l'hormone prothoracicotrope pendant le début du dernier stade larvaire de *Bombyx mori*.

GU S.H., CHOW Y.S.

1997 *Adv. Comp. Endocr., Proc. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol., Vol. 1, 139-143. (E)*

Cloning and sequence analysis of cDNA for diuretic hormone receptor from the *Bombyx mori*.

Clonage et séquençage de l'ADNc d'un récepteur d'hormone diurétique chez *Bombyx mori*.

HA S.D. *et al.*

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Pusan, Korea.

2000 *Mol. Cells, Vol. 10(1), 13-17. (E)*

Effects of fibroin foam powder prepared from silk yarn on serum cholesterol concentration in rats.

Effets de la poudre de la mousse de fibroïne préparée à partir de fil de soie sur la concentration de cholestérol sérique chez les rats.

HIRAO K., TUKAKOSHI S., IGARASHI K.

1999 *Nippon Eiyo, Shokuryo Gakkaishi, Vol. 52(4), 219-223.*

Titres of biogenic amines and ecdysteroids: effect of octopamine on the production of ecdysteroids in the silkworm *Bombyx mori*.

Titration des amines biogéniques et des ecdystéroïdes : effet de l'octopamine sur la production d'ecdystéroïdes chez le ver à soie *Bombyx mori*.

HIRASHIMA A. *et al.*

1999 *J. Insect Physiol., Vol. 45, 843-851. (E)*

A clinical evaluation of the new laboratory method that diagnoses bacterial infection, using silkworm larvae plasma.

Une évaluation clinique de la nouvelle méthode de laboratoire pour diagnostiquer les infections bactériennes, en utilisant le plasma des larves de ver à soie.

HIYOSHI M., TAGAWA S., HASHIMOTO S., TATSUMI N.

1999 *Kansenshogaku Zasshi, Vol. 73(12), 1222-1226. (J)*

Evolutionary conservation of apoptosis mechanisms: lepidopteran and baculoviral inhibitor of apoptosis proteins are inhibitors of mammalian caspase-9.

Conservation évolutive des mécanismes d'apoptose : L'inhibiteur des protéines d'apoptose de baculovirus et de lépidoptères sont des inhibiteurs de la caspase-9 de mammifères.

HUANG Q. *et al.*

Microbiology Program, Department of Entomology, University of California, One Shields Avenue, Davis, CA 95616, USA.

2000 *Proc. Natl. Acad. Sci., Vol. 97(4), 1427-1432. (E)*

Nutritional and hormonal effects on storage proteins in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Effets hormonaux et nutritionnels sur les protéines de stockage chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

JANARTHANAN S. *et al.*

1999 *J. Biosci., Vol. 24(1), 53-57. (E)*

Changes in protein profiles during pupal development in silkworm *Bombyx mori* (L.).

Changements des profils protéiques pendant le développement larvaire chez *Bombyx mori* (L.).

JANARTHANAN S., KRISHNAN M., IGNACIMUTHU S.

1998 *Indian J. Exp. Biol., Vol. 36(11), 1158-1160. (E)*

Purification of 35K protease from the digestive juice of *Bombyx mori*.

Purification de la protéase 35K à partir du suc digestif de *Bombyx mori*.

JIANG Y. *et al.*

Zhejiang University, 268, Kaixuan Road, Hangzhou, 310029, China.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 47-53. (J,e)

Expression of ecdysone receptor isoforms and trehalase in the silk gland of *Bombyx mori* during an extra larval molt and precocious pupation induced by 20-hydroxyecdysone administration.

Expression d'isoformes de récepteur d'ecdysone et de tréhalase dans la glande séricigène de *Bombyx mori* pendant une mue larvaire supplémentaire et transformation précoce en chrysalide induites par l'administration de 20-hydroxyecdysone.

KAMIMURA M. *et al.*

1999 *Arch. Insect Biochem. Physiol.* Vol. 41(2), 79-88. (E)

Purification and characterization of an insect haemolymph protein promoting in vitro replication of the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.

Purification et caractérisation d'une protéine de l'hémolymphe d'insecte promouvant la réplication du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* in vitro.

KANAYA T., KOBAYASHI J.

Chuo-Sanken Laboratory, Katakura Industries Co. Ltd, 1548 Shimo-Okutomi, Sayama, Saitama 350-1332, Japan.

2000 *J. Gen. Virol.*, Vol. 81(4), 1135-1141. (E)

Lipopolysaccharide-binding protein of *Bombyx mori* participates in a hemocyte-mediated defense reaction against gram-negative bacteria.

La protéine liant les lipopolysaccharides de *Bombyx mori* participe à une réaction de défense contre les bactéries Gram-négative induite dans l'hémocyte.

KOIZUMI N. *et al.*

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 853-859. (E)

Age-related changes in the dendrites of olfactory receptor neurons in the male silkworm *Antheraea pernyi* (Insecta, Lepidoptera, Saturniidae).

Changements liés à l'âge dans les dendrites de neurones récepteurs olfactifs chez le papillon mâle *Antheraea pernyi* (Insecta, Lepidoptera, Saturniidae).

KUMAR G.L. *et al.*

1998 *Cell. Biol. Int.*, Vol. 22(6), 445-455. (E)

Distribution of trypsin inhibitor in the cocoon floss of the silkworm, *Bombyx mori*.

Distribution d'un inhibiteur de trypsine dans la bourre du cocon de ver à soie, *Bombyx mori*.

KURIOKA A., YAMAZAKI M., HIRANO H.

The Silk Science Research Institute of the Dainippon Raw Silk Foundation, Hyakunincho 3-25-1, Shinjuku-ku, 169-0073, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 63-66. (E,j)

Characterization of serine protease inhibitors from wild cocoons of *Antheraea yamamai* and *Bombyx mandarina* in comparison with those from *Bombyx mori*.

Caractérisation des inhibiteurs de protéase à sérine tirés de cocons d'*Antheraea yamamai* et *Bombyx mandarina* par comparaison avec ceux de *Bombyx mori*.

KURIOKA A., YAMAZAKI M., HIRANO H.

The Silk Science Research Institute of the Dainippon Row Silk Foundation, Hyakunincho 3-25-1, Shinjuku-ku, 169-0073, Japan.

2000 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 69(1), 21-30. (E,j)

Synthesis of the pheromone oriented behavior of silkworm moths by a mobile robot with moth antennae as pheromone sensors.

Analyse du comportement orienté des papillons de vers à soie par une phéromone avec un robot mobile ayant une antenne de papillon comme détecteur de phéromone.

KUWANA Y. *et al.*

1999 *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 14(2), 195-202. (E)

Duality monomer-dimer of the pheromone-binding protein from *Bombyx mori*.

Dualité monomère-dimère de la protéine liant la phéromone de *Bombyx mori*.

LEAL W.S.

Laboratory of Chemical Prospecting, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Japan.

2000 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 268(2), 521-529. (E)

Modification of the nutritional parameters of midgut biochemical and absorptive functions induced by the IGR fenoxycarb in *Bombyx mori* larvae.

Modification des paramètres nutritionnels des fonctions absorptives et biochimiques de l'intestin moyen induite par le fenoxycarbe chez la larve de *Bombyx mori*.

LEONARDI M.G. *et al.*

1998 *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 39(1), 18-35. (E)

Cloning and gene synthesis and expression and structure of antibacterial peptide CMIV from *Bombyx mori*.

Clonage et synthèse de gène, expression et structure du peptide antibactérien CMIV de *Bombyx mori*.

LI X. *et al.*

1999 *Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao*, Vol. 15(3), 387-391.

Characterization of an overexpressed spindle protein during a baculovirus infection.

Caractérisation d'une protéine surexprimée pendant une infection par baculovirus.

LI X., BARRETT J., PANG A., KLOSE R.J., KRELL P.J.

Laboratory for Molecular Virology, Great Lakes Forestry Centre, 1219 Queen St East, Sault Ste. Marie, Ontario, P6A 5M7, USA.

2000 *Virology*, Vol. 268(1), 56-67. (E)

Biochemical studies on digestive amylase in new bivoltine races of silkworm, *Bombyx mori* L. Comparative analysis of yield traits.

Études biochimiques sur l'amylase digestive chez de nouvelles races bivoltines de ver à soie, *Bombyx mori* L. Analyse comparative des rendements.

MARIBASHETTY V.G. *et al.*

1998 *Entomon.*, Vol. 23(3), 241-243. (E)

Gene transfer into insect brain and cell-specific expression of bombyxin gene.

Transfert de gènes dans le cerveau d'insectes et expression cellulaire spécifique du gène de bombyxine.

MOTO K., ABDEL SALAM S.E.

1999 *Dev. Genes Evol.*, Vol. 209(7), 447-450. (E)

Three dimensional structure and receptor recognition sites of bombyxin II, an insulin-like-brain-secretory peptide of the silkworm.

Structure tri-dimensionnelle et sites de reconnaissance du récepteur de bombyxin II, un peptide de type insuline du cerveau du papillon du ver à soie.

NAGATA K. *et al.*

1997 *Adv. Comp. Endocr., Proc. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol.*, Vol. 1, 121-124. (E)

Free fatty acid composition in a silkworm (*Bombyx mori*) blood.

Composition en acides gras libres du sang du ver à soie (*Bombyx mori*).

NAKAMURA T.

1999 *Nat. Prod. Lett.*, Vol. 13(4), 317-320. (E)

Spectroscopic characterization of the conformational adaptability of *Bombyx mori* apolipoprotein III.

Caractérisation spectroscopique de l'adaptabilité conformationnelle de l'apolipoprotéine III de *Bombyx mori*.

NARAYANASWAMI V. *et al.*

Lipid and Lipoprotein Research Group, University of Alberta, Edmonton, Canada.

2000 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 267(3), 728-736. (E)

Study on the chemical components of silkworm pupa crust and its microstructure.

Etude des composants chimiques de la carapace des chrysalides de vers à soie et leur microstructure.

NI H. *et al.*

1999 *Hubei daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, Vol. 21(1), 69-72.

Polarity of the ecdysone complex interaction with the palindromic response element from the *hsp27* gene promoter.

Polarité de l'interaction du complexe ecdysone avec l'élément de réponse palindromique du promoteur du gène *hsp27*.

NIEDZIELA-MAJKA A., KOCHMAN M., OZYHAR A.

2000 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 267(2), 507-519. (E)

A pattern-recognition protein for beta-1,3-glucan. The binding domain and the cDNA cloning of beta-1,3-glucan recognition protein from the silkworm, *Bombyx mori*.

Un schéma de reconnaissance protéique pour le bêta-1,3-glucane. Le domaine de liaison et le clonage d'ADNc de la protéine de reconnaissance du bêta-1,3-glucane de ver à soie, *Bombyx mori*.

OCHIAI M., ASHIDA M.

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo 060-0819, Japan.

2000 *J. Biol. Chem.*, Vol. 275(7), 4995-5002. (E)

Biosynthesis of L-alanine, a major amino acid of fibroin in *Samia cynthia ricini*.

Biosynthèse de L-alanine, un acide aminé majeur de la fibroïne chez *Samia cynthia ricini*.

OSANAI M., OKUDAIRA M., NAITO J., DEMURA M., ASAKURA T.

Department of Biology, Faculty of Science, Kanazawa University, Japan.

2000 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 30(3), 225-232. (E)

Gibberellic acid induced yield improvement in mulberry silkworm *Bombyx mori*.

Amélioration du rendement induit par l'acide gibbéréllique chez le ver à soie du mûrier *Bombyx mori*.

PAI L.K., HEDGE S.N.

1997 *Trends Life Sci.*, Vol. 12(2), 117-121. (E)

Octopamine modulates the sensitivity of silkworm pheromone receptor neurons.

L'octopamine module la sensibilité des neurones récepteurs de phéromone des papillons de vers à soie.

POPHOF B.

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie Seewiesen, Starnberg, Germany.

2000 *J. Comp. Physiol.*, Vol. 186(3), 307-313. (E)

Decyl-thio-trifluoropropanone, a competitive inhibitor of moth pheromone receptors.

Decyl-thio-trifluoropropanone, un inhibiteur compétitif des récepteurs de phéromone de papillon.
POPHOF B., GEBAUER T., ZIEGELBERGER G.
Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie Seewiesen, Starnberg, Germany.
2000 *J. Comp. Physiol.*, Vol. 186(3), 315-323. (E)

Effects of two vertebrates hormones on the biology of silkworm *Bombyx mori* L.

Effets de deux hormones de vertébrés sur la biologie du ver à soie, *Bombyx mori* L.
RANI P.P., BHARATI D.
1998 *Philipp. J. Sci.*, Vol. 127(3), 213-220. (E)

Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex.

Attraction sexuelle chez le papillon du ver à soie : Structure du complexe protéine de liaison-bombykol.
SANDLER B.H., NIKONOVA L., LEAL W.S., CLARDY J.
Department of Chemistry and Chemical Biology, Cornell University, Ithaca, NY 14853-1301, USA.
2000 *Chem. Biol.*, Vol. 7(2), 143-151. (E)

Bombyxin secretion in the adult silkworm *Bombyx mori*: sex-specificity and its correlation with metabolism.

Sécrétion de bombyxine chez le papillon de *Bombyx mori* : spécificité sexuelle et sa corrélation avec le métabolisme.
SATAKE S. *et al.*
1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 939-945. (E)

Phe-X-Pro-Arg-leu-NH₂ peptides producing cells in the central nervous system of the silkworm *Bombyx mori*.

Cellules produisant des peptides Phe-X-Pro-Arg-leu-NH₂ dans le système nerveux central du ver à soie *Bombyx mori*.
SATO Y. *et al.*
1997 *Adv. Comp. Endocr., Proc. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol.*, Vol. 1, 623-627. (E)

Bioassay of an antifungal fraction prepared from larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Essai biologique d'une fraction antifongique préparée à partir de l'hémolymphe larvaire du ver à soie, *Bombyx mori*.
SATO Y., SATO M., SHIMIZU T., SUZUKI K.
Miyagi Prefectural Sericultural Experiment Station, 70 Tateminami Watari-machi. Miyagi 989-2361, Japan.
1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 455-460. (J,e)

A novel protein that binds juvenile hormone esterase in fat body tissue and pericardial cells of the tobacco hornworm *manduca*.

Une nouvelle protéine liant l'estérase de l'hormone juvénile dans le corps adipeux et les cellules péricardiques du ver du tabac *manduca*.
SHANMUGAVELU M., BAYTAN A.R., CHESNUT J.D., BONNING B.C.
Department of Entomology and the Program in Genetics, Iowa State University, Ames, Iowa 50011, USA.
2000 *J. Biol. Chem.*, Vol. 275(3), 1802-1806. (E)

Binding of phylogenetically distant *Bacillus thuringiensis* Cry toxins to a *Bombyx mori* aminopeptidase N suggests importance of Cry toxin's conserved structure in receptor binding.
Liaison de toxines Cry de *Bacillus thuringiensis* distantes phylogénétiquement à un aminopeptidase N de *Bombyx mori* suggérant l'importance de la structure conservée des toxines Cry dans la liaison au récepteur.

SHINKAWA A. *et al.*

1999 *Curr. Microbiol.*, Vol. 39(1), 14-20. (E)

Structure of the VAP-peptide (BmACP-6.7) gene in the silkworm, *Bombyx mori* and a possible regulation of its expression by BmFTZ-F1.

Structure du gène du peptide VAP (BmACP-6.7) chez le ver à soie *Bombyx mori* et régulation possible de son expression par BmFTZ-F1.

SHIOMI K., NIIMI T., IMAI K., YAMASHITA O.

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Japan.

2000 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 30(2), 119-125. (E)

Effect of 1-(4-phenoxyphenoxypropyl) imidazole (KS175) on larval growth in the silkworm *Bombyx mori*.

Effet de l'imidazole 1-[4-phénoxyphénoxypropyle] (KS175) sur la croissance larvaire chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SHIOTSUKI T. *et al.*

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 1049-1055. (E)

Synthesis and resorption of a humoral chymotrypsin inhibitor , C1-8, by fat body of the silkworm, *Bombyx mori*.

Synthèse et résorption de l'inhibiteur de chymotrypsine humorale, C1-8, par le corps adipeux du ver à soie, *Bombyx mori*.

SHIRAI K., FUJII H., DOIRA H., IWAMOTO H.

Institute of Genetic Resources, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka, Japan.

2000 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 30(5), 363-368. (E)

Molecular composition of the wall of insect olfactory sensilla - the chitin question.

Composition moléculaire de la paroi des sensilles olfactives des insectes - La question de la chitine.

STEINBRECHT R.A., STANKIEWICZ B.A.

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 785-790. (E)

A novel lipopolysaccharide response element in the *Bombyx mori* cecropin B promoter.

Un nouvel élément répondant aux lipopolysaccharides dans le promoteur de cécropine B de *Bombyx mori*.

TANAI K., TOMITA S.

Laboratory of Biological Defense, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba 305-8634, Japan.

2000 *J. Biol. Chem.*, Vol. 275(18), 13179-13182. (E)

Lipid transfer particles catalyzes transfer of carotenoids between lipophorins of *Bombyx mori*.
Les particules de transfert de lipides catalysent le transfert de caroténoïdes entre les lipophorines de *Bombyx mori*.

TSUCHIDA K. *et al.*

1998 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 28, 927-934. (E)

Effects of local heavy ion beam irradiation on the hemopoietic organs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets de l'irradiation locale avec des rayons à ions lourds sur les organes hémapoïétiques du ver à soie, *Bombyx mori*.

TU Z.L. *et al.*

Department of Applied Biology, Shinshu University, Tokita, Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 491-500. (J,e)

Neuroendocrine regulation of seasonal morpho development in a bivoltine race (Daizo) of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Régulation neuroendocrine du morpho-développement saisonnier chez une race bivoltine (Daizo) de ver à soie, *Bombyx mori* L.

YAMANAKA A., TSURUMAKI J., ENDO K.

Environmental Biology Laboratory, Institute of Biological Science, faculty of Science, Yamaguchi University, Yamaguchi, Japan.

2000 *J. Insect Physiol.*, Vol. 46(5), 803-808. (E)

Diapause hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. Gene expression and molecular function.

Hormone de diapause du ver à soie, *Bombyx mori*. Expression du gène et fonction moléculaire.

YAMASHITA O., SATO Y., NIIMI T.

1997 *Adv. Comp. Endocr., Prac. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol.*, Vol. 1, 115-119. (E)

Characterization of the ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene of *Spodoptera litura* multinucleocapsid nucleopolyhedrovirus.

Caractérisation du gène de l'ecdystéroïde UDP-glycosyltransférase du virus de la polyédrose nucléaire multinucléocapside de *Spodoptera litura*.

YAN Q., PANG Y., YANG J., NONG G., OUYANG X., DAI X.

State Key Laboratory for Biocontrol, Zhongshan University, Guangzhou, China.

1999 *Chin. J. Biotechnol.*, Vol. 15(2), 113-119. (E)

cDNA cloning of acyl-CoA desaturase homologs in the silkworm, *Bombyx mori*.

Clonage d'ADNc d'homologues de l'acylCoA désaturase chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

YOSHIGA T., OKANO K., MITA K., SHIMADA T., MATSUMOTO S.

Laboratory of Molecular Entomology and Baculovirology, RIKEN, Hirosawa 2-1, Wako, Saitama, Japan.

2000 *Gene*, Vol. 246(1-2), 339-345. (E)

Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia.

Structure de la chitine d'insecte de la cuticule de la larve du scarabée et de l'exuvie de la chrysalide de ver à soie (*Bombyx mori*).

ZHANG M., HAGA A., SEKIGUCHI H., HIRANO S.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Japan.

2000 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 27(1), 99-105. (E)

Establishment and suspension cultivation of silkworm *Bombyx mori* cell line BmN-ZJ-S.

Etablissement et suspension de la culture de la lignée cellulaire BmN-ZJ-S du ver à soie *Bombyx mori*.

ZHOU Y., ZHANG Z., HE J.

Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 34-37. (C,e)

Chemicals in laboratory room air stimulate olfactory neurons of female *bombyx mori*.

Les produits chimiques dans l'air ambiant des laboratoires stimulent les neurones olfactifs de la femelle de *Bombyx mori*.

ZIESMANN J. *et al.*

Max Planck Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, Postfach 1564, D-82305, Starnberg, Germany.

2000 *Chem. Senses*, Vol. 25(1), 31-37. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Presence of eupyrene spermatozoa in vestibulum accelerates oviposition in the silkworm moth, *Bombyx mori*.

La présence de spermatozoïdes eupyrènes dans le vestibulum accélère l'oviposition chez le papillon du ver à soie, *Bombyx mori*.

KARUBE F., KOBAYASHI M.

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 947-957. (E)

Effects of heavy ions on embryogenesis in silkworm, *Bombyx mori*: comparison of radiation effects among three different ions.

Effets des ions lourds sur l'embryogenèse chez le ver à soie, *Bombyx mori* : comparaison des effets des radiations de trois ions différents.

KIGUCHI K. *et al.*

1998 *J.A.E.R.I. Res.*, Vol. 98(016), 38-40. (E)

Studies on controlling the hatching of single-female silkworm.

Etudes sur le contrôle de l'éclosion de vers à soie d'une femelle.

LIN J. *et al.*

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 56-58. (C)

Changes in embryonic protein profile and economic characters of *Bombyx mori* (*lepidoptera:bombycidae*) following UV irradiation.

Changements du profil des protéines embryonnaires et des caractères économiques de *Bombyx mori* (*lepidoptera : bombycidae*) à la suite d'une irradiation aux UV.

NIRMALA X., VANISHREE V., KRISHNAN M.

Department of Biotechnology, Bharathidasan University, Tiruchirappalli, India.

1999 *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 37(6), 560-566. (E)

Developmental changes in accumulation and metabolism of ecdysteroids in diapause eggs and non-diapause eggs of the silkworm *Bombyx mori*.

Changements dans l'accumulation et le métabolisme des ecdystéroïdes des oeufs diapausants et des oeufs non-diapausants chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SONOBE H. *et al.*

1997 *Adv. Comp. Endocr., Proc. 13th Int. Cong. Comp. Endocrinol.*, Vol. 1, 185-189. (E)

Research on the mutagenic effect of He-Ne laser radiation on silkworm (*Bombyx mori*).

Recherche sur les effets mutagènes de la radiation laser He-Ne sur le ver à soie (*Bombyx mori*).

TAN A., XU H., CHEN Z.

1998 *Jiguang Shengwu Xuebao*, Vol. 7(3), 168-170. (E)

Effects of general and local irradiation of heavy ion beams on the development and morphogenesis of the silkworm.

Effets de l'irradiation locale et générale par des rayons à ions lourds sur le développement et la morphogénèse du ver à soie.

TU Z.L. *et al.*

Department of Applied Biology, Shinshu University, Tokita, Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 443-453. (J,e)

Molecular cloning of a cDNA for a small GTP binding protein, BRho, from the embryo of *Bombyx mori* and its characterization after expression and purification.

Clonage moléculaire de l'ADNc d'une petite protéine de liaison à la GTP, BRho, de l'embryon de *Bombyx mori* et sa caractérisation après expression et purification.

UNO T., NAKASUJI A., HARA W., AIZONO Y.

Laboratory of Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Kobe University, Nada-Ku, Kobe, Hyogo, Japan.

2000 *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 43(4), 165-172. (E)

Purification and molecular structure analysis of the time interval protein esterase A4 from diapausing eggs of silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et analyse de la structure moléculaire au cours du temps de l'estérase A4 dans les oeufs diapausants du ver à soie, *Bombyx mori*.

XU S. *et al.*

1999 *Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao*, Vol. 15(2), 241-246.

Effect of acid stimulus-dose on esterase A4 activity and its relationship with activation of acid-treated eggs of silkworm, *Bombyx mori*.

Effet d'une dose d'acide comme stimulus sur l'activité de l'estérase A4 et sa relation avec l'activation des oeufs de ver à soie *Bombyx mori* traités à l'acide.

XU S., CHEN X., SIMA Y., ZHENG B., YU X.

Sericultural College, Suzhou University, Suzhou 215151, China.

2000 *Canye Kexue*, Vol. 26(1), 20-26. (C,e)

***In vitro* transcription of gene for precursor protein of diapause hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide in *Bombyx mori*.**

Transcription *in vitro* du gène de la protéine précurseur de l'hormone de diapause et du neuropeptide activant la biosynthèse de phéromone chez *Bombyx mori*.

XU W., ZHANG L., CHENG L., LIU J.

1999 *Shengwu Gongcheng Xuebao*, Vol. 15(2), 244-247.

Oxygen consumption in relation to sorbitol utilization at the termination of diapause in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Consommation d'oxygène en relation avec l'utilisation de sorbitol à la fin de la diapause chez les oeufs de ver à soie, *Bombyx mori*.

YAGINUMA T., YAMASHITA O.

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 621-627. (E)

***Bombyx* acid cysteine protease (BCP): hormonal regulation of biosynthesis and accumulation in the ovary.**

Protéase à cystéine acide de *Bombyx* (BCP) : régulation hormonale de la biosynthèse et accumulation dans l'ovaire.

YAMAMOTO Y., YAMAHAMA Y., KATOU K., WATABE S., TAKAHASHI S.Y.

Biochemistry and Radiation Biology, College of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi, Japan.

2000 *J. Insect Physiol.*, Vol. 46(5), 786-791. (E)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Evolution of arthropod silks.

Evolution des soies d'arthropodes.

CRAIG C.L.

1997 Annu. Rev. Entomol. Vol. 42, 231-267. (E)

Molecular architecture and evolution of a modular spider silk protein gene.

Architecture moléculaire et évolution d'un gène modulaire de protéine de soie d'araignée.

HAYASHI C.Y., LEWIS R.V.

Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie, WY 82071-3944, USA.

2000 Science, Vol. 287(5457), 1477-1479. (E)

TATA-binding protein-TATA interaction is a key determinant of differential transcription of silkworm constitutive and silk gland-specific tRNA (Ala) genes.

L'interaction entre la protéine de liaison et la séquence TATA est un déterminant clé de la transcription différentielle des gènes d'ARNt(Ala) spécifiques à la glande séricigène et des gènes constitutifs.

OUYANG C., MARTINEZ M.J., YOUNG L.S., SPRAGUE K.U.

Department of Physics, University of Oregon, Eugene, Oregon 97403, USA.

2000 Mol. Cell. Biol., Vol. 20(4), 1329-1343. (E)

Silk production in a spider involves acid bath treatment.

La production de soie chez une araignée nécessite un bain acide.

VOLLRATH F., KNIGHT D.P., HU X.W.

1998 Proc. R. Soc. Lond. B., Vol. 265, 817-820. (E)

The structure of the dragline control valves in the garden spider.

La structure des valves de contrôle de soie chez les araignées de jardin.

WILSON R.S.

1962 Quart. J. Microscop. Sci., Vol. 103, 549-555. (E)

The control of dragline spinning in the garden spider.

Le contrôle du filage de la toile d'araignée chez l'araignée de jardin.

WILSON R.S.

1962 Quart. J. Microscop. Sci., Vol. 103, 557-571. (E)

Soie

Silk

Structure of alanine and glycine residues of *Samia cynthia ricini* silk fibers studied with solid state 15N and 13C NMR.

Structure des résidus alanine et glycine des fibres de soie de *Samia cynthia ricini* par RMN 15N et 13C à l'état solide.

ASAKURA T. *et al.*

1999 *Macromolecules*, Vol. 32(15), 4940-4946. (E)

Structural analysis of silk with 13C NMR chemical shift contour plots.

Analyse structurale de la soie par RMN au 13C.

ASAKURA T. *et al.*

1999 *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 24(2/3), 167-171. (E)

Separation of thorium from aqueous solution using silk fibroin.

Séparation du thorium dans une solution aqueuse en utilisant la fibroïne de soie.

ASLANI M.A.A., ERAL M., AKYIL S.

1998 *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, Vol. 238(1/2), 123-127. (E)

Supercontracted spider dragline silk: a solid state NMR study of the local structure.

Soie d'araignée supercontractée : une étude RMN de l'état solide de la structure locale.

BEEK J.D., *et al.*

1999 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 24(2/3), 173-178. (E)

Examination of subunit composition of *Bombyx mori* silk fibroin.

Examen de la composition en sous-unités de la fibroïne de soie de *Bombyx mori*.

CAI Z., YU T.

1998 *J. China Text. Univ.*, Vol. 15(2), 28-31.

Immobilization of lipase on silk.

Immobilisation de lipase sur la soie.

CAO G., HUANG J., GAO G.

1997 *Shengwu Gongcheng Xuebao*, Vol. 13(1), 88-92.

Immobilization of glucose oxidase on silk.

Immobilisation de glucose-oxydase sur la soie.

CAO G., SHENG M., LENG Y., GAO G.

1998 *Shipin Kexue*, Vol. 19(4), 3-6.

Molecular order in spider major ampullate silk (dragline): effects of spinning rate and post spin drawing.

Ordre moléculaire dans la soie d'araignée ampoulaire ; effet du taux de filage et du schéma de post-filage.

CARMICHAEL S., VINEY C.

1999 *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 72(7), 895-903. (E)

Characterization of silk produced in 12th century Japan with the aid of ¹³C NMR.

Caractérisation de soie produite au 12ème siècle au Japon avec l'aide de la NMR au ¹³C.

CHAJO R.

1999 *Mater. Sci. Eng. Serv. Soc., Proc. Okinaga Symp.*, Vol. 317-322. (E)

Study on functional silk fiber and its products with odor removing and antibacterial activity.

Etude sur la fibre de soie fonctionnelle et ses produits présentant des activités anti odeurs et antibactérienne.

CHEN W. *et al.*

1998 *Fangzhi Xuebao*, Vol.19(6), 332-335.

Selective transport of amino acids through silk fibroin membrane.

Transport sélectif des acides aminés à travers une membrane de fibroïne de soie.

CHEN Y., CHEN J.

1998 *Zhejiang Sichou Gongxueyuan Xuebao*, Vol. 15(4), 271-276.

Biosensor of glucose dehydrogenase immobilized by regenerated silk fibroin.

Biocepteur de glucose déshydrogénase immobilisée sur la fibroïne de soie régénérée.

CHENG Q. *et al.*

1998 *Hangzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, Vol. 25(4), 63-65.

Atomistic modeling of interphase in spider silk fibers

Modélage atomistique de l'interphase dans les fibres de soie d'araignée.

FOSSEY S.A., TRIPATHY S.

1999 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 24(2/3), 119-125. (E)

Structure and physical properties of silk fibroin/polyacrylamose blend films.

Structure et propriétés physiques des films constitués du mélange fibroïne de soie/polyacrylamose.

FREDDI G., TSUKADA M., BERETTA S.

1999 *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 71(10), 1563-1571. (E)

Study on the rheological properties of silk fibroin solution.

Etude sur les propriétés rhéologiques d'une solution de fibroïne de soie.

FU S. *et al.*

1999 *Sichuan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, Vol. 36(1), 99-104.

Chemical modification of silk fibroin with 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine. II. Graft-polymerization onto fabric through 2-methacryloyloxyethyl isocyanate and interaction between fabric and platelets

Modification chimique de la fibroïne de soie avec le 2-méthacryloyloxyéthyl phosphphorylcholine. II. Polymérisation sur les tissus à travers l'isocyanate de 2-méthacryloyloxyéthyl et interaction entre les tissus et les plaquettes.

FURUZONO T. *et al.*

Nationale Institute of Sericultural and Entomological Sciences, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

2000 *Biomaterials*, Vol. 21(4), 327-333. (E)

Chemical modification of silk fibroin with 2-methacryloyloxyethyl phosphoryl choline. 1/ Graft-polymerisation onto fabric using ammonium persulfate and interaction between fabrics and platelets.

Modification chimique de la fibroïne de soie avec méthacryloyloxyéthyle-2 phosphoryl choline. 1/ Polymérisation-greffage sur les étoffes utilisant le persulfate d'ammonium et interaction entre les tissus et les plaquettes.

FURUZONO T. *et al.*

1999 *J. Applied Polym. Sci.*, Vol. 73(12), 2541-2544. (E)

Effect of ultraviolet light on silk fabrics.

Effet de la lumière ultraviolette sur les tissus de soie.

GOGOI S., BARUAH B., SARKAR C.R.

1999 *Colourage*, Vol. 46(2), 23-26, 28-30. (E)

Dynamic and static light scattering of dilute aqueous solutions of silk fibroin collected from *Bombyx mori* silkworm.

Dispersion de lumière dynamique et statique de solutions aqueuses diluées de fibroïne de soie collectée du ver à soie *Bombyx mori*.

HOSSAIN K., NEMOTO N., MAGOSHI J.

1999 *Langmuir*, Vol. 15(12), 4114-4119. (E)

Dyeabilities of chitosan-treated tussah silk dyed with acid, basic and disperse dyes.

Capacités de teinture de la soie tussah traitée avec du chitosan teinte avec des teintures acides, basiques et dispersées.

KAKO T.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(6), 521-523. (J)

Graft polymerisation of methacrylate onto wild silk fibroin treated with an alkaline solution.

Polymérisation greffage de méthacrylate sur la fibroïne de soie sauvage traitée avec une solution alcaline.

KAWAHARA Y.

1999 *J. Macromol. Sci. Phys.*, Vol. B38(4), 471-478. (E)

Immobilizing glucose oxidase in tussah silk fibers.

Immobilisation de glucose-oxydase dans les fibres de soie tussah.

KAWAHARA Y.

1999 *Text. Res. J.*, Vol. 69(2), 151. (E)

Characterization of microvoids in mulberry and tussah silk fibers using stannic acid treatment.

Caractérisation de microvides chez les fibres de soie tussah et mûrier par le traitement à l'acide stannique.

KAWAHARA Y., SHIOYA M.

1999 *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 73(3), 363-367. (E)

Degumming of silk in an ultrasonic field.

Décreusage de la soie dans un champ ultrasonique.

KRASOWSKI A.

1999 *Melliand Textilber.*, Vol. 80(6), 543-545. (E)

Structural and conformation changes of regenerated *Antheraea pernyi* silk fibroin films treated with methanol solution.

Changements structurels et conformationnels des films de fibroïne de soie régénérée d'*Antheraea pernyi* traités avec une solution de méthanol.

KWEON H.Y., PARK Y.H.

1999 *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 73(14), 2887-2894. (E)

Crystalline regions of *Bombyx mori* silk fibroin may exhibit B-turn and B-helix conformations.

Les régions cristallines de la fibroïne de soie de *Bombyx mori* peuvent présenter des conformations en spirales B et en hélices B.

LAZO N.D., DOWNING D.T.

1999 *Macromolecules*, Vol. 32, 4700-4705. (E)

DSC studies on bound water in silk fibroins/S carboxymethyl keratine blend films.

Études DSC sur l'eau fixée dans les films de fibroïne de soie / kératine carboxyméthyle S.

LEE K.Y., HA W.J.

1999 *Polymer*, Vol. 40(14), 4131-4134. (E)

Preparation de composite fibroin membrane.

Préparation de membrane de fibroïne composite.

LI M. *et al.*

1998 *Fangzhi Xuebao*, Vol. 19(6), 339, 373-374.

Determination of pentachlorophenol in silk.

Détermination de pentachlorophénol dans la soie.

MEYER R., JAEKEL R.

1999 *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.*, Vol. 95(1), 14-16.

Material properties of cobweb silk from the black widow *Latrodectus hesperus*.

Propriétés de la soie de toile d'araignée de la veuve noire *Latrodectus hesperus*.

MOORE A.M.F., TRAN K.

1999 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 24(2/3), 277-282. (E)

Isoprenoid-substituted flavonoids from the root bark of chinese moraceous plants.

Flavonoïdes substitués en isoprénoïdes à partir de l'écorce des racines de plants de mûriers chinois.

NOMURA T., HANO Y., FUKAI T.

1998 *Recent res. Dev. Phytochem.*, Vol. 2(2), 191-218. (E)

Silk fibroin electrochemical immunosensor application in clinical analysis.

Application d'immunocapteur électrochimique de fibroïne de soie dans les analyses cliniques.

PENG T. *et al.*

1999 *Yingyong Kexue Xuebao*, Vol. 17(1), 13-17. (E)

A positron annihilation study of the tensile behaviour of bivoltine silk fibers.

Une étude d'annihilation par positron du comportement extensible des fibres de soie bivoltine.

RAMGOPAL G. *et al.*

1999 *Eur. Polym. J.*, Vol. 35(6), 1107-1113. (E)

In situ X-ray diffraction during forced silking of spider silk.

Diffraction aux rayons X *in situ* pendant le filage forcé de la soie d'araignée.

RIEKEL C., MUELLER M., VOLLRATH F.

1999 *Macromolecules*, Vol. 32, 4464-4465. (E)

The microbial degradation of silk: a laboratory investigation.

La dégradation microbienne de la soie : une recherche en laboratoire.

SEVÉS A. *et al.*

1998 *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, Vol. 42(4), 203-211. (E)

Heterogenous morphology of *Nephila edulis* spider silk and its significance for mechanical properties.

Morphologie hétérogène de la soie d'araignée *Nephila edulis* et sa signification pour ses propriétés mécaniques.

SHAO Z. *et al.*

1999 *Polymer*, Vol. 40(16), 4709-4711. (E)

Analysis of spider silk in native and supercontracted states using Raman spectroscopy.

Analyse de la soie d'araignée à l'état natif et supercontracté en utilisant la spectroscopie Raman.

SHAO Z. *et al.*

1999 *Polymer*, Vol. 40(10), 2493-2500. (E)

Specific interactions in silk fibroin-poly (potassium acrylate) blends.

Intéactions spécifiques dans les mélanges fibroïne de soie et de poly acrylate de potassium.

SHAO Z., SUN Y., ZHOU P., YU T.

1999 *Polym. J.*, Vol. 31(5), 470-475. (E)

The effects of solvents on the contraction and mechanical properties of spider silk.

L'effets de solvents sur les propriétés mécaniques et la contraction de la soie d'araignée.

SHAO Z., VOLLRATH F.

1999 *Polymer*, Vol. 40, 1799-1806. (E)

Studies on performances of esterification catalyzed by immobilized lipase on silk in organic solvents.

Etudes sur les performances de l'estérification catalysée par la lipase immobilisée sur la soie dans des solvants organiques.

SHENG M., CAO G.

1999 *Fenzhi Cuihua*, Vol. 13(2), 109-114.

Compatibilization of acrylic polymer-silk fibroin blend fibers. 2/ Morphology and mechanical properties of the compatibilized blend fibers.

Compatibilité des fibres mélangées de polymère acrylique et de fibroïne de soie. 2/ Morphologie et propriétés mécaniques des fibres mélangées compatibles.

SUN Y., SHAO Z., ZHOU J., YU T.

1999 *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 73(11), 225-226. (E)

Isolation of silk degrading microorganisms and its poly (L-lactide) degradability.

Isolement de microorganismes dégradant la soie et sa poly (L-lactide) dégradabilité.

TOKIWA Y., KONNO M., NISHIDA H.

1999 *Chem. Lett.*, Vol. 4, 355-356. (E)

The interfacial behavior of *Bombyx mori* silk fibroin.

Le comportement de l'interface de la fibroïne de soie de *Bombyx mori*.

VALLUZZI R.

PhD, University of Massachusetts, Amherst, USA.

1998

Chirality and fibrous protein macromolecular assembly.

Chiralité et assemblage macromoléculaire de protéines fibreuses.

VALLUZZI R., KAPLAN D.

*1999 Polym. Prepr., Vol. 40(1), 510. (E)***B-glucosidase immobilization on silk fibroin membrane.**

Immobilisation de B-glucosidase sur une membrane de fibroïne de soie.

WAN X. *et al.**1998 Gaojishu Tongxun, Vol. 8(8), 41-44. (E)***Development of structure in natural silk spinning and poly(vinyl alcohol) hydrogel formation.**

Développement de structure dans le filage de la soie et la formation d'hydrogel de poly(vinyl alcool).

WILLCOX P.J.

PhD., University of Massachusetts, USA.

*1998***Conformational transitions in model silk peptides.**

Transitions conformationnelles dans des peptides modèles de soie.

WILSON D., VALLUZZI R., KAPLAN D.

Department of Chemical Engineering and Biotechnology Center, Tufts university, Medford, Massachusetts 02155, USA.

*2000 Biophys. J., Vol. 78(5), 2690-2701. (E)***Content quantitative analysis of natural silk/tussah silk blended fabrics.**

Analyses quantitatives des tissus mélangés de soie naturelle et de soie tussah.

WU J., ZHEN S.

*1998 Zhejiang Sichou Gongxueyuan Xuebao, Vol. 15(2), 93-97.***Stabilization and application of fibroin solution.**

Stabilisation et application de solution de fibroïne.

YOU Q.

*1998 Zhejiang Sichou Gongxueyuan Xuebao, Vol. 15(2), 98-103.***Determination of silk protein structure of *Antheraea yamamai* cocoon shell by IR spectrum.**Détermination de la structure de la protéine de soie de la coque du cocon d'*Antheraea yamamai* par spectre IR.

ZHANG J., WANG X., LIU L.

*1999 Guangpu Shiyanshi, Vol. 16(7), 197-200.***SEM and EDX studies on spider silk and silkworm silk.**

Etudes SEM et EDX sur la soie d'araignée et la soie de ver à soie.

ZHANG Z., LI T., CHEN Z.

1998 Hangzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, Vol. 25(4), 70-74.

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 premières 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. Sei. 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 × 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.

