

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

B. MAUCHAMP
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) |
| ✓ BOSQUET G. (France) | LIU S.-X. (Chine / <i>China</i>) |
| CAPPELLOZZA L. (Italie / <i>Italy</i>) | LU H.-S. (Chine / <i>China</i>) |
| COUBLE P. (France) | MACHII H. (Japon / <i>Japan</i>) |
| DANDIN S.B. (Inde / <i>India</i>) | MANO Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| DAS B.C. (Inde / <i>India</i>) | MAUCHAMP B. (France) |
| DATTA R.K. (Inde / <i>India</i>) | MIRANDA J. E. (Brésil / <i>Brazil</i>) |
| DOIRA H. (Japon / <i>Japan</i>) | REALI G. (Italie / <i>Italy</i>) |
| FONSECA T.C. (Brésil / <i>Brazil</i>) | SHIMURA K. (Japon / <i>Japan</i>) |
| FREDDI G. (Italie / <i>Italy</i>) | SOMASHEKAR T.H. (Inde / <i>India</i>) |
| GOLDSMITH M.R. (USA) | SONWALKAR T.N. (Inde / <i>India</i>) |
| HE K. (Chine / <i>China</i>) | TAKEDA S. (Japon / <i>Japan</i>) |
| HORIE Y. (Japon / <i>Japan</i>) | TAZIMA Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| IATROU K. (Canada) | TRENCZEK T. (Rép. tchèque / <i>Czech Republic</i>) |
| JOLLY M.S. (Inde / <i>India</i>) | VAGO C. (France) |
| KOBAYASHI M. (Japon / <i>Japan</i>) | ✓ VEY A. (France) |
| LEA H. Z. (Corée / <i>Korea</i>) | YAMASHITA O. (Japon / <i>Japan</i>) |

SOMMAIRE - CONTENTS

Articles scientifiques / Scientific papers

- Combining ability estimates in the silkworm, *Bombyx mori* L. for larval and cocoon traits** 127
 Estimations de l'aptitude combinatoire chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. pour les caractères de la larve et du cocon 133
 M. A. A. EID, S. A. S. EL-MAASARAWY, A. HOSNY & U. M. M. GHAZY

- Transovarian transmission of pebrine spores, *Nosema bombycis* Naegeli in the leaf-roller pest of mulberry, *Diaphania pulverulentalis*** 137
 Transmission transovarienne des spores de pébrine, *Nosema bombycis* Naegeli chez le parasite enrouleur de la feuille de mûrier, *Diaphania pulverulentalis* 143
 T. RAMEGOWDA & M. GEETHA BAI

- Effect of different soil stress factors on growth and sporulation of biocontrol agents effective against soilborne diseases of mulberry** 147
 Effet de différents facteurs de stress du sol sur la croissance et la sporulation des agents de lutte biologique efficaces contre les maladies du mûrier 157
 D. D. SHARMA, PALLAB KUMAR DAS & V. NISHITHA NAIK

Rapports techniques / Technical reports

- Genetic divergence in some mulberry genotypes** 163
 Divergence génétique chez certains génotypes de mûrier 169
 M. S. RAHMAN, M. A. BARI & O. I. JOARDER

- Studies on bivoltine cocoons cooking : Part I. Influence of permeation treatments in cooking process on water absorption characteristics of Japanese bivoltine cocoons** . 173
 Etudes sur la cuisson des cocons bivoltins : Première partie. Influence des traitements d'imprégnation dans le processus de cuisson sur les caractéristiques d'absorption de l'eau des cocons bivoltins japonais 183
 G. HARIRAJ, HARUO KINOSHITA & T. H. SOMASHEKAR

- Studies on bivoltine cocoon cooking : Part II. Influence of permeation treatments in cooking process on reeling characteristics of Japanese bivoltine cocoons** 189
 Etudes sur la cuisson des cocons bivoltins : Deuxième partie. Influence des traitements d'imprégnation dans le processus de cuisson sur les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins japonais 201
 G. HARIRAJ, HARUO KINOSHITA & T. H. SOMASHEKAR

- Studies on bivoltine cocoon cooking : Part III. Influence of permeation treatments in cooking process on quality characteristics of Japanese bivoltine cocoons** 209
 Etudes sur la cuisson des cocons bivoltins : Troisième partie. Influence des traitements d'imprégnation dans le processus de cuisson sur les caractéristiques de qualité des cocons bivoltins japonais 217
 G. HARIRAJ, HARUO KINOSHITA & T. H. SOMASHEKAR

Notes brèves / Brief notes

Induced juvenile rooting ability into adults from seedling in *Terminalia arjuna* 223

Capacité de racinement juvénile induite chez des adultes à partir de plantules de
Terminalia arjuna 225

R. KUMAR, GARGI, M. C. JOSHI, A. GANGOPADHYAY & B. R. R. P. SINHA

Induced flowering in *Terminalia arjuna* 227

Induction de la floraison chez *Terminalia arjuna* 229

R. KUMAR, GARGI, M. C. JOSHI, RAM KUMAR, V. KULSHREHHA &

B. R. R. P. SINHA

COMBINING ABILITY ESTIMATES IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. FOR LARVAL AND COCOON TRAITS

M. A. A. EID*, S. A. S. EL-MAASARAWY¹, A. HOSNY² & U. M. M. GHAZY²

1. Sericultural Research Laboratory, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt.

2. Sericultural Research Department, A. R. C., Ministry of Agriculture, Cairo, Egypt.

A 6 × 6 half-diallel cross analysis including six silkworm entries and F₁ hybrids was carried out to study their combining ability. None of parental entries under study was good for all characters. It was observed that no hybrid recorded all desired parameters under study. It is suggested that there is a predominant role of non-additive gene action for all parameters under study.

Keywords: Combining ability, *Bombyx mori*, hybrid analysis.

INTRODUCTION

The silkworm *Bombyx mori* has well-defined geographical races (Hirobe, 1968), which display genetic, physiological, ethological, morphological, biochemical and quantitative differences (Yokoyama, 1979 ; Gamo and Ohtsuka, 1980 ; Gamo, 1983). Breeding efforts yielded a number of inbred lines (Jolly, 1983 ; Datta, 1984 ; Nagaraju *et al.*, 1996 ; Ghazy, 1999).

Analysis of diallel crosses has been used for two objectives; first for detection of parents and superior crosses for the traits under investigation, secondly to detect the kinds and relative magnitudes of genetic variability among the crosses of inbred lines for choosing the most efficient method of selection (Subba Rao and Sahia, 1998).

The present study has been undertaken by using 6 genetic stocks resulting from inbreeding under the local environmental influence to get information on general and specific combining ability variances and effects for four quantitative traits.

MATERIALS AND METHODS

The resources used in this study were from A. R. C., Giza, Egypt including univoltine strains (imported from Italy, 1969) and bivoltine strains from Korea, (1990). A 6 × 6 half diallel cross was carried out according to the method outlined by Hayman (1954).

Half diallel cross was made between six entries (Ej, Ech, Dj, Dch, 380 and SA105) during spring. The rearing technology was as described by Krishnaswami (1978). Three replicates were reared, in each the female egg laying was considered as a replicate.

The analysis of variance was done according to Steel Torrie (1980). The data were analysed according to the method of Griffing (1956).

* To whom correspondence should be addressed.

RESULTS AND DISCUSSION

General and specific combining abilities:

Evaluation of inbreds for use in crossing requires tests to reflect the performance of lines in combination with others. This is referred to as combining ability. Combining ability, can be further defined as being general or specific. General combining ability is the average performance of a strain in many crosses, or the average (additive) effects. While, specific combining ability is a particular performance in a single cross or the effects of deviation from the average (epistatic and dominance) (Lea, 1996).

Table I. Analysis of variance of combining ability and estimates of variance components during spring.

Tableau I. Analyse de variance de la capacité combinatoire et estimations des composants de variance au printemps.

S. V.	D. F.	Cocoon Weight		Cocoon shell weight		Cocoon shell ratio		Larval duration
		Females	Males	Females	Males	Females	Males	
		<i>Poids du cocon</i>		<i>Poids de la coque</i>		<i>Richesse soyeuse</i>		
		<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	
G. C. A.	5	0.0356**	0.0261**	0.0022**	0.0021**	3.3553**	5.2102**	7.0711**
S. C. A.	15	0.0192**	0.0094**	0.0014**	0.0010**	1.2233**	1.6422**	6.9163**
Error / <i>Ecart</i>	40	0.0035	0.0012	0.0002	0.0001	0.3963	0.3288	0.4301
G.C.A. variance (δ^2_g)	-	0.0021	0.0021	0.0001	0.0001	0.2665	0.4460	0.0193
S.C.A. variance (δ^2_s)	-	0.0157	0.0082	0.0012	0.0009	0.8271	1.3134	6.4862
G.C.A. δ^2_g / S.C.A. δ^2_s	-	0.1338	0.2561	0.0833	0.1111	0.3222	0.3396	0.0030

S. V. : Source of variance / *Source de variance.*

D. F. : Degrees of freedom / *Degrés de liberté.*

G. C. A. : General combining ability / *Aptitude générale à la combinaison.*

S. C. A. : Specific combining ability / *Aptitude spécifique à la combinaison.*

It is obvious that general and specific combining abilities differed very significantly for both sexes for all traits (Table I). From these results, it is further evident that additive as well as non-additive gene effects have an important role in the estimated genetic variance. This estimated genetic variance included general combining ability (G. C. A.) δ^2g and specific combining ability (S. C. A.) δ^2s . It is observed that the genetic variance of the specific combining ability δ^2s is usually higher than that of (G. C. A.) δ^2g in all traits. Values of (G.C.A.) δ^2g / (S.C.A.) δ^2s ratio suggested a predominant role of non-additive gene action for all parameters under investigation for both sexes. These results are in agreement with the findings of Subba Rao and Sahai (1989), Singh *et al.*, (1990) and Rahman *et al.*, (1992) who found that both G.C.A. and S.C.A. showed a significant variance for shell weight, shell ratio and larval duration indicating an important both additive and non-additive gene action for them. Krishnaswami *et al.*, (1964) and Sengupta *et al.*, (1974) also recorded the non-additive to be operating in the genetic control of cocoon and shell weight in multivoltine (*Bombyx mori* L.) races. Moreover, Bhargava *et al.*, (1992) reported that non-additive gene action was found to be dominant in control of cocoon weight, shell weight, shell ratio and other traits of *Bombyx mori* L. Satenahalli *et al.*, (1989) clarified that there was a predominance of non-additive genetic variance for cocooning, pupation and larval duration.

Table II. Estimates of general combining ability effects for variables of individual parents during spring.

Tableau II. Estimations des effets de la capacité générale à la combinaison pour les variables des parents au printemps.

Parents	Cocoon weight		Cocoon shell weight		Cocoon shell ratio		Larval duration
	Females	Males	Females	Males	Females	Males	
	<i>Poids du cocon</i>		<i>Poids de la coque soyeuse</i>		<i>Richesse soyeuse</i>		
	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	
Ej	−0.071**	−0.060**	−0.021**	−0.021**	−0.471*	−0.631**	−0.101
Ech	−0.005	−0.006	0.012**	0.012**	0.761**	0.932**	−0.140
Dj	−0.076**	−0.075**	−0.010*	−0.021**	0.072	0.081	−0.902**
Dch	0.005	0.022*	−0.011*	0.001	−0.441*	−0.350	−1.061**
380	0.064**	0.066**	0.003	0.003	−0.700**	−0.981**	0.982**
SA105	0.084**	0.50**	0.031**	0.022**	0.781**	0.950**	1.223**
g _i CD 5%	0.038	0.022	0.008	0.008	0.411	0.374	0.438
g _i CD 1%	0.051	0.030	0.011	0.010	0.549	0.500	0.572

Table III. Estimates of specific combining ability effects for half-diallel 6 × 6 set of *B. mori* L. during spring.*Tableau III. Estimations des effets de la capacité spécifique à la combinaison pour le lot demi-diallétique 6 × 6 de B. mori L. au printemps.*

Crosses	Fresh cocoon weight		Cocoon shell weight		Cocoon shell ratio		Larval duration
	Females	Males	Females	Males	Females	Males	
	<i>Poids du cocon frais</i>		<i>Poids de la coque</i>		<i>Richesse soyeuse</i>		
<i>Croisements</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Femelles</i>	<i>Mâles</i>	<i>Durée larvaire</i>
Ej × Ech	0.241**	0.189**	0.053**	0.053**	0.383	0.753	– 1.301**
Ej × Dj	0.032	0.030	0.022*	0.012	1.530**	0.422	1.091*
Ej × Dch	– 0.021	– 0.080**	– 0.012	– 0.021*	– 0.900	– 0.310	0.992*
Ej × 380	– 0.120**	– 0.023	– 0.021*	– 0.022*	0.321	– 0.881*	– 1.650**
Ej × SA105	– 0.151**	– 0.132**	– 0.040**	– 0.041**	– 1.131*	– 0.820	– 1.030
Ech × Dj	0.192**	0.135**	0.044**	0.040**	0.242	0.941*	1.692**
Ech × Dch	0.123**	0.022	0.065**	0.041**	2.051**	2.590**	0.561
Ech × 380	0.052	0.081**	0.012	0.005	– 0.009	– 0.971*	– 2.523**
Ech × SA105	– 0.002	0.020	– 0.002	– 0.002	– 0.240	– 0.702	– 3.962**
Dj × Dch	– 0.081	– 0.061*	– 0.010	– 0.001	0.411	0.963*	1.181*
Dj × 380	0.051	– 0.011	0.013	0.001	0.400	– 0.244	– 0.490
Dj × SA105	– 0.040	– 0.010	– 0.031**	– 0.031**	– 1.441**	– 1.401**	– 0.901
Dch × 380	0.021	– 0.020	– 0.032**	– 0.030**	– 1.862**	– 1.663**	– 0.763
Dch × SA105	0.80	0.074**	0.022*	0.032**	– 0.070	0.720	– 0.270
380 × SA105	0.120**	0.032	0.040**	0.033**	0.621	1.601**	– 3.581**
Sij CD5%	0.087	0.051	0.019	0.017	0.931	0.848	0.970
Sij CD1%	0.117	0.068	0.025	0.023	1.246	1.135	1.302

General combining ability effect (g^A):

Table II, shows, the estimation of relative general combining ability effects of the parental entries from F₁ hybrid for all traits under study. It is worthwhile that positive significance of the general combining effects is desirable for cocoon weight, cocoon shell weight and cocoon shell ratio. However, negative significance is desirable for total larval duration. SA105 and 380 showed highly positive significant G.C.A. effects for cocoon weight for both sexes. Estimated values of G.C.A. effect for SA105 were (0.084 & 0.050) and (0.064 & 0.066) for 380 entry for females and males, respectively. While, the remaining entries were poor combiners for this trait.

Highly positive significant G.C.A. effects were observed for the cocoon shell weight for either SA105 (0.031 and 0.022) or Ech (0.012 & 0.012) for females and males, respectively. Other entries were poor in their combinations. Cocoon shell ratio followed the same trend of the cocoon shell weight. Values of G.C.A. effect were (0.781 and 0.950) for SA105 and (0.761 and 0.932) for Ech for their females and males, respectively. The last parameter of total larval duration showed a highly negative significance of G.C.A. effect for Dj and Dch. Their effects were - 0.902 and - 1.061, respectively. While, the effects of the other remaining entries were either positive or insignificantly negative.

The fore-mentioned results clarified that SA105 entry was a good combiner for all characters except that of larval duration. However, Ech entry was good for cocoon weight and shell ratio. While, 380 was much better for cocoon weight only. Dj and Dch have revealed the shortest larval duration among all entries. Therefore, it could be concluded that none of the parental entries under study was good for all characters.

Similar results were obtained by many authors. Satenahalli *et al.*, (1989), Subba Rao and Sahai (1989), Singh *et al.*, (1990) and Rahman *et al.*, (1992) stated that no single parent was found as a good general combiner for all economic traits of *Bombyx mori* L. They added that means of any parameter for each parent could not be used as an indicator for their general combining ability.

Specific combining ability (S^A_{ij}):

The estimated values of specific combining effects of F₁ hybrid are presented in Table III, it reveals that the crosses of Ej × Ech possess the highest S.C.A. effect for female cocoon weight (0.241) and that of male (0.189) followed by Ech × Dj, whereas values of (0.192) for female and (0.135) for male were obtained. They were very significantly positive. Other crosses indicated poor combining effect hence their effect were not significantly positive or negative. In respect of cocoon shell weight, the best combinations were Ej × Ech (0.053 & 0.053), Ech × Dj (0.044 & 0.040), Ech × Dch (0.065 & 0.041), Dch × SA 105 (0.022 & 0.032), 380 × SA105 (0.040 & 0.033) for female and male, respectively. According to cocoon shell ratio, the only hybrid that exhibited highly significant positive S.C.A. effects was Ech × Dch. These ratios were 2.051 & 2.590 for females and males, respectively. Regarding total larval duration, the six best combinations were Ej × Ech (- 1.031), 380 × SA105 (- 3.581), Ej × 380 (- 1.650), Ej × SA105 (- 1.030), Ech × 380 (- 2.523) and Ech × SA105 (- 3.962). The remaining crosses showed a positive significance or were negatively insignificant.

From the previous results, it was observed that no hybrid recorded all the desired parameters under study. However, Ej × Ech cross gathered three traits and three hybrids of Ech × Dj, Ech × Dch and 380 × SA105 for two characters as well as five crosses for the larval duration parameter only.

REFERENCES

- BHARGAVA S. K., THIAGARAJAN V., BABU M. R., NAGARAJ B. (1992) Combining ability and genetic analysis of quantitative traits in silkworm *Bombyx mori* L. J. Genetics and Breeding 46, 327-330.
- DATTA R. K. (1984) Improvement of silkworm races *Bombyx mori* L. in India. Sericologia, 24, 393-415.

- GAMO T. (1983) Biochemical genetics and its application to the breeds of the silkworm. *JARQ*, 1b, 264-272.
- GAMO T., OHTSUKA Y. (1980) Phylogenetic studies on the racial differences of the silkworm, *Bombyx mori* on the basis of polymorphic genes in haemolymph proteins. *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, 28, 15-50.
- GHAZY U. M. M. (1999) Isolation and evaluation of pure lines of mulberry silkworm *Bombyx mori* L., M. Sc. Thesis. Faculty of Agric. Cairo University.
- GRIFFING B. (1956) Concepts of general specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.*, 9, 463-493.
- HIROBE T. (1968) Evaluation, differentiation and breeding of the silkworm – the silk road, past and present. *Genetics in Asian countries*, XII Int. Cong. Genet., 25-36.
- HAYMAN B. I. (1954) The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39, 789 – 809.
- JOLLY M. S. (1983): Silkworm breeding in India. In *Silkworm Genetic and Breeding*. Natl. Semin, Silk Res. Dev. Bangalore, India, 1-9.
- KRISHNASWAMI S., JOLLY M. S., SUBBA RAO S. (1964) Diallel analysis of quantitative characters in multivoltine races of the silkworm. *Indian J. Genet.*, 24, 213-222.
- LEA H. Z. (1996) Basic principles and practical techniques of silkworm breeding. Dept. of boil., Kangwon National Univ., Chun Chon, Korea.
- NAGARAJU J., RAJEUR S., DATTA R. K. (1996) Cross breeding and heterosis in the silkworm, *Bombyx mori* L. A review. *Sericologia*, 36, 1-20.
- RAHMAN S., MAHFUZAR K., HAQIE T., AHMED S. U. (1992) Heterosis, inbreeding depression and correlation coefficient in silkworm *Bombyx mori* L. (English summary). *Bangladesh J. Zool.* 20, 269-278.
- SATENAHALLI S. B., GOVINDAN R., GOUD J. V. (1989) Studies on combining ability in silkworm *Bombyx mori* L. *Mysore J. Agric. Sci.*, 23, 216-219.
- SENGUPTA K., YUSUF M. R., GROVER S. P. (1974) Hybrid vigour and genetic analysis of quantitative traits in silkworm. *Indian J. Genet.*, 34, 249-255.
- SINGH R., NAGARAJU J., RAO R. R. M., PREMALATHA V., VIJAYARAGHAVAN K., GUPTA S. K. (1990) Heterosis analysis in the silkworm *Bombyx mori* L. *Sericologia* 30, 293-300.
- STEEL R. C. D., TORRIE J. H. (1980) Principles and procedures of statistics and biometrical approach 2nd Ed. MC Graw Hill.
- SUBBA RAO G., SAHAI V. (1989) Combining ability and heterosis studies in bivoltine strains of silkworm *Bombyx mori* L. *Uttar Pradesh J. Zool.* 9, 150-164.
- YOKOYAMA T. (1979) Silkworm selection and hybridization. In *Genetics in relation to insect management worked papers*, Rockefeller Foundation, 71-83.

ESTIMATIONS DE L'APTITUDE COMBINATOIRE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L. POUR LES CARACTERES DE LA LARVE ET DU COCON

M. A. A. EID*, S. A. S. EL-MAASARAWY¹, A. HOSNY² & U. M. M. GHAZY²

1. Sericultural Research Laboratory, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypte.

2. Sericultural Research Department, A. R. C., Ministry of Agriculture, Cairo, Egypte.

On a réalisé une analyse croisée demi-diallétique 6 × 6 comprenant six lignées de vers à soie et leurs hybrides F1 pour étudier leur aptitude combinatoire. Aucun des parents étudiés n'est bon pour tous les caractères. Aucun hybride n'enregistre tous les paramètres désirés étudiés. On suggère qu'il existe un rôle prédominant de l'action de gènes non-additive pour tous les paramètres étudiés.

INTRODUCTION

Le ver à soie *Bombyx mori* possède des races géographiques bien définies (Hirobe, 1968), qui présentent des différences génétiques, physiologiques, éthologiques, morphologiques, biochimiques et quantitatives (Yokoyama, 1979 ; Gamo et Ohtsuka, 1980 ; Gamo, 1983). Les efforts de lignage ont fourni un grand nombre de lignées consanguines (Jolly, 1983 ; Datta, 1984 ; Nagaraju et coll., 1996 ; Ghazy, 1999).

On a utilisé l'analyse des croisements diallétiques avec deux objectifs : d'abord pour la détection de parents et pour réaliser des croisements supérieurs pour les caractères étudiés, deuxièmement pour déterminer les types et les amplitudes relatives de la variabilité génétique dans les croisements des lignées consanguines pour choisir la méthode la plus efficace de sélection (Subba Rao et Sahia, 1998).

Cette étude a été entreprise en utilisant 6 souches génétiques obtenues par élevage consanguin sous l'influence de l'environnement local pour obtenir des informations sur les variances de l'aptitude combinatoire générale et spécifique et sur ses effets sur quatre caractères quantitatifs.

MATERIELS ET METHODES

Les ressources utilisées dans cette étude sont celles de l'A. R. C., à Giza en Egypte comprenant des souches monovoltines (importées d'Italie, 1969) et des souches bivoltines de Corée (1990). On réalise un croisement demi-diallétique 6 × 6 selon la méthode décrite par Hayman (1954).

Le croisement demi-diallétique a été effectué entre six spécimens (Ej, Ech, Dj, Dch, 380 et SA105) au printemps. La technologie d'élevage est celle de Krishnaswami (1978). On élève trois répétitions, chacune d'elles étant composée d'une ponte d'oeufs.

On procède à l'analyse de variance selon Steel Torrie (1980). On analyse les données selon la méthode de Griffing (1956).

* Auteur auquel adresser la correspondance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Aptitudes combinatoires générale et spécifique :

L'évaluation des consanguins pour les utiliser dans les croisements nécessite des tests pour refléter la performance des lignées en combinaison avec les autres. On appelle cela l'aptitude combinatoire. De plus, on peut définir l'aptitude combinatoire comme générale ou spécifique. L'aptitude combinatoire générale est la performance moyenne d'une souche dans de nombreux croisements, ou les effets moyens (additifs). Tandis que l'aptitude combinatoire spécifique est une performance particulière dans un croisement unique ou les effets de la déviation par rapport à la moyenne (épistatique et dominante) (Lea, 1996).

Il est évident que les aptitudes combinatoires générale et spécifique diffèrent de manière très importante chez les deux sexes pour tous les caractères (Tableau I). D'après ces résultats, il est encore plus évident que les effets génétiques non-additifs jouent un rôle important dans l'estimation de la variance génétique. Cette variance génétique estimée inclut l'aptitude combinatoire générale (G. C. A.) δ^2_g et l'aptitude combinatoire spécifique (S. C. A.) δ^2_s . On observe que la variance génétique de l'aptitude combinatoire spécifique δ^2_s est en général plus élevée que celle de la G.C.A. δ^2_g pour tous les caractères. Les valeurs pour le rapport (G. C. A.) δ^2_g / (S. C. A.) δ^2_s suggèrent un rôle prédominant d'une action non-additive du gène pour tous les paramètres étudiés chez les deux sexes. Ces résultats sont en accord avec les observations de Subba Rao et Sahai (1989), Singh et coll., (1990) et Rahman et coll., (1992) qui ont trouvé que la G. C. A. et la S. C.A. présentent une variance significative pour le poids de la coque, la richesse soyeuse et la durée larvaire, ce qui indique une action génétique additive et non-additive importante pour ces caractères. Krishnaswami et coll., (1964) et Sengupta et coll., (1974) ont aussi enregistré que l'action non-additive est opérante dans le contrôle génétique du poids du cocon et de la coque chez les races polyvoltines (*Bombyx mori* L.). De plus, Bhargava et coll., (1992) ont rapporté que l'action génétique non-additive s'avère dominante dans le contrôle du poids du cocon, du poids de la coque, de la richesse soyeuse et d'autres caractères chez *Bombyx mori* L. Satenahalli et coll., (1989) ont établi qu'il y a une prédominance de la variance génétique non-additive pour la formation du cocon, la nymphose et la durée larvaire.

Effet de l'aptitude combinatoire générale ($g^{\wedge}i$) :

Le Tableau II montre l'estimation des effets de l'aptitude combinatoire générale des spécimens parents à partir des hybrides F1 pour tous les caractères. La portée positive des effets combinatoires est désirable pour le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse. Cependant, la portée négative est désirable pour la durée larvaire totale. SA105 et 380 présentent des effets G. C. A. significatifs très positifs pour le poids du cocon chez les deux sexes. Les valeurs estimées de l'effet G. C. A. chez SA105 sont (0,084 et 0,050) et chez 380 (0,064 et 0,066) respectivement pour les femelles et les mâles. Tandis que les spécimens restants sont de mauvais recombinaisons pour ce caractère.

On observe des effets G. C. A. significatifs très positifs pour le poids de la coque soyeuse à la fois chez SA105 (0,031 et 0,022) et Ech (0,012 et 0,012) respectivement chez les femelles et les mâles. Les autres spécimens sont de mauvais recombinaisons. La richesse soyeuse du cocon suit la même tendance que le poids du cocon. Les valeurs de l'effet G. C. A. sont (0,781 et 0,950) chez SA105 et (0,761 et 0,932) chez Ech pour respectivement les femelles et les mâles. Le dernier paramètre de la durée larvaire totale indique un effet significativement très négatif de la G. C. A. chez Dj et Dch. Son effet est respectivement de - 0,902 et - 1,061. Tandis que les effets chez les autres spécimens sont positifs ou ne sont pas significativement négatifs.

Les résultats ci-dessus montrent que le spécimen SA105 est un bon recombinaison pour tous les caractères sauf pour la durée larvaire. Cependant, le spécimen Ech convient pour le poids du cocon et la richesse soyeuse. Tandis que 380 n'est mieux que pour le poids du cocon. Parmi tous les

spécimens Dj et Dch ont la durée larvaire la plus courte. On peut donc en conclure qu'aucun des spécimens parentaux étudiés n'est à la hauteur pour tous les caractères.

De nombreux auteurs ont obtenu des résultats similaires. Satenahalli et coll., (1989), Subba Rao et Sahai (1989), Singh et coll., (1990) et Rahman et coll., (1992) ont constaté qu'aucun parent ne convient comme bon recombinaut spécifique pour tous les caractères économiques chez *Bombyx mori* L. Ils ont ajouté que les moyennes pour n'importe quel paramètre chez chacun des parents ne peuvent pas être utilisées comme un indicateur de leur aptitude combinatoire générale.

Aptitude combinatoire spécifique (S^*ij) :

Les valeurs estimées des effets combinatoires spécifiques chez les hybrides F_1 sont présentées dans le Tableau III. Les croisements de $Ej \times Ech$ possèdent l'effet S.C.A. le plus élevé pour le poids du cocon femelle (0,241) et mâle (0,189) suivi par $Ech \times Dj$, chez qui on obtient les valeurs de (0,192) pour la femelle et (0,135) pour le mâle. Ils sont très positifs. Les autres croisements indiquent un mauvais effet combinatoire, leurs effets ne sont donc pas significativement positifs ou négatifs. Concernant le poids de la coque soyeuse, les meilleures combinaisons sont $Ej \times Ech$ (0,053 et 0,053), $Ech \times Dj$ (0,044 et 0,040), $Ech \times Dch$ (0,065 et 0,041), $Dch \times SA\ 105$ (0,022 et 0,032), $380 \times SA\ 105$ (0,040 et 0,033) respectivement chez la femelle et le mâle. Concernant la richesse soyeuse, le seul hybride qui présente des effets S. C. A. positifs très significatifs est $Ech \times Dch$. Ces ratios sont de 2,051 et de 2,590 respectivement chez les femelles et chez les mâles. Concernant la durée larvaire totale, les six meilleures combinaisons sont $Ej \times Ech$ (-1,031), $380 \times SA\ 105$ (-3,581), $Ej \times 380$ (-1,650), $Ej \times SA\ 105$ (-1,030), $Ech \times 380$ (-2,523) et $Ech \times SA\ 105$ (-3,962). Les autres croisements présentent une signification positive ou sont négativement non significatifs.

D'après les résultats obtenus, on observe qu'aucun hybride ne possède tous les paramètres désirés étudiés. Cependant, le croisement $Ej \times Ech$ rassemble trois caractères et trois hybrides $Ech \times Dj$, $Ech \times Dch$ et $380 \times SA\ 105$ deux caractères ; par ailleurs cinq croisements ne présentent que le paramètre de la durée larvaire.

TRANSOVARIAN TRANSMISSION OF PEBRINE SPORES, *NOSEMA BOMBYCIS* NAEGELI IN THE LEAF-ROLLER PEST OF MULBERRY, *DIAPHANIA PULVERULENTALIS*

T. RAMEGOWDA AND M. GEETHA BAI*

Entomology Unit, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute,
Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India

Transovarian transmission of pebrine spores, *Nosema bombycis* Naegeli (Microsporidia: Nosematidae) was observed in the leaf-roller pest of mulberry, *Diaphania* (= *Margaronia*) *pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera: Pyralidae) in laboratory studies and reported here. Fifth instar leaf-roller caterpillars were given an infective feeding using pebrine spores isolated from *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Pebrine spore suspension of four spore loads, i. e., 3.9×10^4 , 3.9×10^5 , 3.9×10^6 and 3.9×10^7 spores/ml were used in this study. One hundred leaf-roller eggs laid by moths developed from each group were kept under observation. Caterpillars from these eggs were reared separately and tested for pebrine spores, after death. Pebrine spores were detected in the moth stage (100%) in the next generation, when the spore suspension used contained 3.9×10^4 spores/ml. When the spore load was increased 10 times, pebrine spores were detected in pupae (11%) and moths (89%), in the next generation, when the spore suspension used contained 3.9×10^5 spores/ml. When the spore load was increased 10 times, *N. bombycis* spores were detected in caterpillars (8%), pupae (36%) and moths (47%) in the next generation, when the used spore suspension had 3.9×10^6 spores/ml. All the 100 eggs did not hatch and were found heavily pebrinised, when the spore load was 3.9×10^7 spores/ml. The study showed that *N. bombycis* is transovarially transmitted in *D. pulverulentalis*.

Keywords: *Diaphania pulverulentalis*, *Nosema bombycis*, Transovarian transmission.

INTRODUCTION

Nosema bombycis Naegeli (Microsporidia: Nosematidae), the causative pathogen of pebrine disease, is transovarially transmitted in silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (Pasteur, 1870), and in *Spilosoma obliqua* Walker (= *Diacrisia obliqua*) (Lepidoptera: Arctiidae) (Chandra, 1987). The leaf-roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera: Pyralidae) is a severe pest of mulberry in Karnataka (Geetha Bai *et al.*, 1997). It is known to be susceptible to *N. bombycis*, isolated from *B. mori*, through secondary contamination (Geetha Bai and Ramegowda, 1999). Experiments were conducted to determine whether *N. bombycis* can be transovarially transmitted in *D. pulverulentalis*, and results are presented here.

* Corresponding author

MATERIALS AND METHODS

A clear suspension of *N. bombycis* used in this study was obtained from tissue homogenates of infected *B. mori* by triangulation method (Cole, 1970). Transovarian transmission of *N. bombycis* in *D. pulverulentalis* was studied using the stock spore suspensions with 3.9×10^7 spores/ml, which was diluted serially with distilled water and spore suspensions from 10^4 to 10^7 spores/ml was used. The spore count was carried out by a haemocytometer. Fresh mulberry leaves were cut into 50 pieces of 1.5 cm sq dimension and 0.034 ml of test spore suspension was smeared on the individual leaflet (1.7 ml for 50 pieces of mulberry leaflets) and was air-dried in shade. The test caterpillars were starved for 6 hours prior to infective feeding. The contaminated chopped mulberry leaves were fed to 50 fifth instar *D. pulverulentalis* caterpillars, individually in vials. Therefore each leaf-roller caterpillar was given 1,326 spores in the first treatment, 13,260 in the second, 1,32,600 in the third treatment and 13,26,000 in the fourth treatment. Fresh mulberry leaves, free from pebrine spore contamination were fed after the caterpillars fed completely on the contaminated leaf and rearing was continued. Freshly emerged moths were allowed to mate among the same type of infective treatment given. Mated females were released on enclosed potted mulberry plants placed in cages. Observations were made daily on all stages of *D. pulverulentalis* in the next generation.

Leaf-roller moths were macerated separately and examined for *N. bombycis* spores, under compound microscope as was done in case of *B. mori* (Han & Watanabe, 1988). They were also examined for bacteria. Similarly dead eggs, caterpillars, and pupae of leaf-roller were also examined microscopically.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study are presented in Tables I & II. It was observed in *D. pulverulentalis* that, when infected "per os" during fifth instar with *N. bombycis* spores, the pathogen is transovarially transmitted to the next generation. When fifth instar leaf-roller caterpillars were given infective feeding using 3.9×10^4 spores/ml, larval, pupal and moth mortality due to *N. bombycis* did not occur (Table I). It was observed that all the treated caterpillars pupated and adults successfully emerged. After death, individual moths were tested under the microscope. It was found that, 76% of moths oviposited and were found infected with pebrine spores. The remaining 24% of moths free from pebrine spores and they were found infected with bacteria. When fifth instar leaf-roller caterpillars were given infective feeding using 3.9×10^5 spores/ml, Mortality due to pebrine spores was 4% in pupae and 6% in moths, prior to oviposition. The remaining 90% of moths oviposited and were found infected with pebrine spores. When the spore load in the infective feeding was further increased by ten fold (3.9×10^6 spores/ml), mortality due to pebrine spores increased to 16% in pupae and to 20% in moths prior to egg laying. Eggs laid by the remaining 56% of moths were pebrinised. Bacterial infection caused mortality in 8% of moths. When the infective feeding contained 3.9×10^7 spores/ml, mortality due to *N. bombycis* in larvae, pupae and moths prior to oviposition was 2, 52 and 18%, respectively. The remaining 28% of moths oviposited and they were also pebrinised. In the control batch, all moths emerged were free from pebrine spore infection. Mortality due to bacteria was recorded in 12.1% of moths during development.

Eggs laid by moths in all the batches were kept under observation. The eggs laid by moths from the batches given the infective feeding with 3.9×10^7 spores/ml, failed to hatch. These eggs were shrivelled, flattened and were found heavily pebrinised. Eggs in the remaining three batches hatched. When one hundred caterpillars from each of these three batches were reared, mortality due to *N. bombycis* occurred. In the case of the infective feeding containing 3.9×10^6 spores/ml, 8, 36 and 47% mortality due to *N. bombycis* was observed during the larval, pupal and moth stages, respectively (Table II). Mortality in pupal and moth stages were observed to be 11 and 89%, respectively, due to pebrine spores, when the spore load in the infective feeding was reduced by 10 times. Mortality did

not occur in larval and pupal stages when the spore load in the infective feeding was further reduced by 10 times (3.9×10^4 spores/ml). However, all the moths in the last two cases were pebrinised.

Table I. *Nosema bombycis* infection in *Diaphania pulverulentalis*, due to infective feeding during fifth instar.

Tableau I. Infestation par *Nosema bombycis* chez *Diaphania pulverulentalis* par nourrissage infectieux au cours du cinquième âge.

Batch No.	No. of caterpillars fed on pebrine spores	No. of pebrine spores given to each leaf-roller caterpillar	Pebrine infection (%)				Bacterial infection (%)
			Larvae	Pupae	Moths		
					Prior to oviposition	After oviposition	
% d'infestation par la pébrine							
No. de lot	Nbre de chenilles nourries sur les spores de pébrine	Nbre de spores de pébrine données à chaque chenille de l'enrouleur de la feuille	Larves	Nymphes	Papillons		% d'infestation bactérienne
					Avant la ponte	Après la ponte	
1	50	1326 (3.9 × 10 ⁴)	0.0	0.0	0.0	76.0	24.0
1	50	13 260 (3.9 × 10 ⁵)	0.0	4.0	6.0	90.0	0.0
2	50	1 32 600 (3.9 × 10 ⁶)	0.0	16.0	20.0	56.0	8.0
3	50	13 26 000 (3.9 × 10 ⁷)	2.0	52.0	18.0	28.0	0.0
4	50	Control / Témoin	0.0	0.0	0.0	0.0	12.1

Table II. *Nosema bombycis* infection in *Diaphania pulverulentalis*, due to transovarian transmission.**Tableau II. Infestation par *Nosema bombycis* chez *Diaphania pulverulentalis*, en raison de la transmission transovarienne.**

Batch No. <i>No. de lot</i>	No. of caterpillars observed	No. of pebrine spores given to each leaf-roller caterpillar	Mortality due to transovarian transmission of <i>N. bombycis</i>			Bacterial infection (%)
			Larvae	Pupae	Moths	
			Mortalité due à la transmission transovarienne de <i>N. bombycis</i> (%)			
	<i>Nbre de chenilles observées</i>	<i>Nbre de spores de pébrine données à chaque chenille de l'enrouleur de la feuille (%)</i>	<i>Larves</i>	<i>Nymphes</i>	<i>Papillons</i>	<i>Infection bactérienne (%)</i>
1	100	1326 (3.9×10^4)	0.0	0.0	100.0	0.0
2	100	13 260 (3.9×10^5)	0.0	11.0	89.0	0.0
3	100	132600 (3.9×10^6)	8.0	36.0	47.0	9.0
4	100	Control / Témoin	0.0	0.0	0.0	10.0

In the control batch, 90% moths emerged and all were free from *N. bombycis* infection. The remaining 10% died during larval stage due to bacterial infection.

CONCLUSION

N. bombycis is transovarially transmitted in *D. pulverulentalis*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Dr. U. D. Bongale, Director and Dr. R. Raghuraman, Division Chief, KSSRDI for facilities provided. Technical assistance of the supporting staff of Entomology Unit is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- CHANDRA, A.K. (1987) Cross-transmission studies of *Nosema bombycis* towards *Diacrisia obliqua* Walker (Lepidoptera : Arctiidae). Proc. Seminar on Prospects of Mulberry Sericulture in the Eastern Region of India. 5-6 May 1987. Central Sericulture Research & Training Institute, Berhampur.
- COLE, R.J. (1970) The application of the 'triangulation' method for purification of *Nosema* spores from infected tissues. *J. Invert. Path.*, 15, 193-195.
- GEETHA BAI, M., MARIMADAI AH, B., NARAYANASWAMY, K.C. & RAJAGOPAL, D. (1997) An out break of leaf-roller pest, *Diaphania* (= *Margaronia*) *pulverulentalis* (Hampson) on mulberry in Karnataka. *Geobios New Reports*, 19, 73-79.
- GEETHA BAI, M. & RAMEGOWDA, T. (1999) Susceptibility of the leaf-roller pest of mulberry *Diaphania* (= *Margaronia*) *pulverulentalis* to *Nosema bombycis* due to secondary contamination. *Sericologia*, 39(2), 325-328.
- HAN, M.S. AND WATANABE, H. (1988) Transovarian transmission of two microsporidia in the silkworm, *Bombyx mori* and disease occurrence in the progeny population. *J. Invert. Path.*, 51, 41-45.
- **PASTEUR, L., (1870) "Etudes sur la maladie des vers a soie" - Tome I, La Pebrine et la Flacherie-Paris, Gauthier- Villars.

** Original not seen

TRANSMISSION TRANSOVARIENNE DES SPORES DE PEBRINE, *NOSEMA BOMBYCIS* NAEGELI CHEZ LE PARASITE ENROULEUR DE LA FEUILLE DE MURIER, *DIAPHANIA PULVERULENTALIS*

T. RAMEGOWDA & M. GEETHA BAI*

Entomology Unit, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute,
Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.

Nous avons observé la transmission transovarienne des spores de pébrine de *Nosema bombycis* Naegeli (Microsporidia : Nosematidae) chez le parasite enrouleur de la feuille de mûrier, *Diaphania* (= *Margaronia*) *pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) dans des études en laboratoire que nous rapportons ici. On donne un repas infectieux à des chenilles de l'enrouleur de la feuille du cinquième âge en utilisant des spores de pébrine isolées sur *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Dans cette étude, on utilise des suspensions de spores de pébrine avec quatre charges en spores, c'est à dire $3,9 \times 10^4$, $3,9 \times 10^5$, $3,9 \times 10^6$ et $3,9 \times 10^7$ spores / ml. On garde sous observation cent œufs de l'enrouleur de la feuille pondus par les papillons dérivés de chaque groupe. On élève séparément les chenilles de ces œufs et on teste la présence des spores de pébrine, après leur mort. On détecte les spores de pébrine au stade du papillon (100 %) de la génération suivante, lorsque la suspension de spores utilisée contient $3,9 \times 10^7$ spores / ml. Quand la charge en spores est multipliée par dix ($3,9 \times 10^5$ spores / ml), on détecte les spores de pébrine dans les nymphes (11 %) et dans les papillons (89 %) de la génération suivante. Quand on multiplie encore la charge en spores par dix ($3,9 \times 10^6$ spores / ml), on détecte les spores de *N. bombycis* dans les chenilles (8 %), dans les nymphes (36 %) et dans les papillons (47 %) de la génération suivante. Les cent œufs n'éclosent pas et sont très atteints par la pébrine quand la charge en spores est de $3,9 \times 10^4$ spores / ml. L'étude montre que *N. bombycis* est transmis de manière transovarienne chez *D. pulverulentalis*.

INTRODUCTION

Nosema bombycis Naegeli (Microsporidia : Nosematidae), le pathogène responsable de la maladie de la pébrine est transmis de manière transovarienne chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) (Pasteur, 1870) et chez *Spilosoma obliqua* Walker (= *Diacrisia obliqua*) (Lepidoptera : Arctiidae) (Chandra, 1987). L'enrouleur de la feuille, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) est un parasite sévère du mûrier au Karnataka (Geetha Bai et coll., 1997). On sait qu'il est sensible à *N. bombycis*, isolé sur *B. mori*, par contamination secondaire (Geetha Bai et Ramegowda, 1999). Nous avons réalisé des expériences pour déterminer si *N. bombycis* peut être transmis de manière transovarienne chez *D. pulverulentalis* et nous présentons les résultats ici.

* Auteur auquel adresser la correspondance.

MATERIELS ET METHODES

On obtient la suspension claire de *N. bombycis* par la méthode de triangulation à partir d'homogénats de tissu de *B. mori* infesté (Cole, 1970). On étudie la transmission transovarienne de *N. bombycis* chez *D. pulverulentalis* en utilisant des suspensions de spores mères contenant $3,9 \times 10^7$ spores / ml, que l'on dilue par phases successives avec de l'eau distillée et on utilise des suspensions de spores de 10^4 à 10^7 spores / ml. On compte les spores avec un hemocytomètre. On coupe les feuilles de mûrier fraîches en 50 morceaux d'une dimension de $1,5 \text{ cm}^2$ et on étale 0,034 ml de suspension de spores sur chaque feuille (1,7 ml pour 50 morceaux de feuilles de mûrier) que l'on sèche à l'air à l'ombre. On affame les chenilles tests pendant 6 heures avant le nourrissage infectieux. On donne les feuilles de mûrier hachées contaminées à 50 chenilles de *D. pulverulentalis* du 5^{ème} âge, individuellement dans des fioles. On donne donc à chaque chenille de l'enrouleur de la feuille 1 326 spores pour le premier traitement, 13 260 pour le deuxième, 132 600 pour le troisième traitement et 1 326 000 pour le quatrième traitement. On donne des feuilles de mûrier fraîches non contaminées par les spores de pébrine en nourrissage après que les chenilles se soient complètement nourries sur les feuilles contaminées et on continue l'élevage. On laisse les papillons de chaque traitement venant d'émerger s'accoupler entre eux. On libère les femelles s'étant accouplées sur des plants de mûrier en pot placés dans des cages. On procède aux observations quotidiennes à tous les stades de *D. pulverulentalis* sur la génération suivante.

On fait macérer les papillons de l'enrouleur de la feuille séparément et on examine les spores de *N. bombycis* avec un microscope comme on le fait chez *B. mori* (Han et Watanabe, 1988). On examine aussi s'ils ont des bactéries. De même, on examine au microscope les œufs, les chenilles et les nymphes mortes de l'enrouleur de la feuille.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'étude sont présentés dans les Tableaux I et II. On observe que lorsque *D. pulverulentalis* est infesté "per os" pendant le 5^{ème} âge avec des spores de *N. bombycis*, le pathogène est transmis de manière transovarienne à la génération suivante. Quand on donne un nourrissage infectieux à des larves de l'enrouleur de la feuille du 5^{ème} âge en utilisant $3,9 \times 10^4$ spores / ml, il ne se produit pas de mortalité larvaire, nymphale ou du papillon due à *N. bombycis* (Tableau I). On observe que toutes les chenilles traitées se transforment en nymphes et les adultes émergent avec succès. Après leur mort, on examine les papillons sous microscope. Il s'avère que 76 % des papillons ont pondus et sont infestés par les spores de pébrine. Les 24 % de papillons restants n'ont pas de spores de pébrine et sont infestés par des bactéries. Quand on donne aux larves de l'enrouleur de la feuille du 5^{ème} âge un nourrissage infectieux en utilisant $3,9 \times 10^5$ spores / ml, la mortalité due aux spores de pébrine est de 4 % chez les nymphes et de 6 % chez les papillons avant la ponte. Les papillons restants (90 %) pondent et s'avèrent infestés par les spores de pébrine. Quand on augmente encore la charge en spores du nourrissage infectieux en la multipliant par dix ($3,9 \times 10^6$ spores / ml), la mortalité due aux spores de pébrine augmente à 16 % chez les nymphes et à 20 % chez les papillons avant la ponte des œufs. Les œufs pondus par les 56 % de papillons restants sont pébrinisés. L'infestation bactérienne provoque la mortalité chez 8 % des papillons. Quand le nourrissage infectieux contient $3,9 \times 10^7$ spores / ml, la mortalité due à *N. bombycis* chez les larves, les nymphes et les papillons avant la ponte est de respectivement 2, 52 et 18 %. Les 28 % de papillons restants pondent et sont aussi pébrinisés. Chez le lot témoin, les papillons qui émergent n'ont pas d'infestation par les spores de pébrine. On enregistre une mortalité due aux bactéries de l'ordre de 12,1 % chez les papillons au cours du développement.

On garde sous observation les œufs pondus par les papillons dans tous les lots. Les œufs pondus par les papillons à partir des lots auxquels on a donné le nourrissage infectieux de $3,9 \times 10^7$ spores / ml n'arrivent pas à éclore. Ces œufs sont ridés, aplatis et très pébrinisés. Les œufs dans les trois lots

restants éclosent. Quand on élève cent chenilles de chacun de ces lots, on constate une mortalité due à *N. bombycis*. Dans le cas du nourrissage infectieux contenant $3,9 \times 10^6$ spores / ml, on observe une mortalité due à *N. bombycis* de l'ordre de 8, 36 et 47 % pendant les stades larvaire, nymphal et du papillon (Tableau II). On observe que la mortalité due aux spores de pébrine aux stades de la nymphe et du papillon est de respectivement 11 % et 89 % quand on diminue la charge en spores du nourrissage infectieux de dix fois. La mortalité ne se produit pas aux stades larvaire et nymphal quand la charge en spores du nourrissage infectieux est à nouveau diminuée de dix fois ($3,9 \times 10^4$ spores / ml). Cependant, tous les papillons dans les deux derniers cas sont pébrinés.

Chez le lot témoin, 90 % des papillons émergent et ils sont tous exempts de l'infestation par *N. bombycis*. Les 10 % restants meurent au stade larvaire en raison d'une infestation bactérienne.

CONCLUSION

N. bombycis est transmis de manière transovarienne chez *D. pulverulentalis*.

EFFECT OF DIFFERENT SOIL STRESS FACTORS ON GROWTH AND SPORULATION OF BIOCONTROL AGENTS EFFECTIVE AGAINST SOILBORNE DISEASES OF MULBERRY*

D. D. SHARMA, PALLAB KUMAR DAS & V. NISHITHA NAIK

Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore-570008, India.

The effects of different soil stress factors like alkalinity, salinity and drought (water deficit/soil moisture stress) were studied on growth and sporulation of *Verticillium chlamydosporium*, *Trichoderma harzianum* and *T. pseudokoningii* under *in vitro* conditions. These biocontrol agents are highly antagonistic against root knot, root rot and nursery diseases of mulberry. Maximum growth and sporulation of all the biocontrol agents were recorded with slightly alkaline pH like 7.5, 8.0 and 8.5, which was on par with check [Potato Dextrose Agar (PDA) medium pH 6.5]. The effect of different salinity was studied (created using NaCl in PDA), all the biocontrol agents were able to grow and sporulate very well at low saline stress of 3.65 to 4.96 m mhos/cm (0.1 & 0.25% NaCl). The growth and sporulation decreased with increase salinity level after 0.25%. With regards to the effect of different drought conditions (created by PEG 6000) the maximum mycelial growth and sporulation of all the biocontrol agents was achieved in low moisture stress conditions (1.0 & 2.0 % PEG concentrations), which was on par with check (medium without PEG). The mycelial growth and sporulation significantly declined with extremely high levels of stress i.e. 10-15 % PEG. Thus present study indicates that all the three biocontrol agents are acidophilic to slightly alkalophilic in nature and moderately tolerate salinity and drought.

Keywords: Biocontrol agents, alkalinity, salinity, drought, mulberry.

INTRODUCTION

Biocontrol agents play an important role in the control of various plant diseases in annual and perennial crops including mulberry. They reduce the inoculum density of the pathogens by mass introduction into the soil (Baker and Cook, 1974). Mulberry (*Morus* spp.) is being cultivated in different soil conditions involving alkalinity, salinity, drought (water deficit/soil moisture stress), etc. (Jolly, 1987; Dandin *et al.*, 2000). These factors play a vital role on survival and multiplication of biocontrol agents in soil (Baker and Cook, 1974). Recently, talc-based biofungicide and bionematicide named as Raksha and Bionema, have been developed at CSRTI, Mysore using *Trichoderma harzianum* and *Verticillium chlamydosporium* for the control of root rot (*Fusarium solani*/*F. oxysporum*) and root knot (*Meloidogyne incognita*) diseases, respectively in mulberry. Similarly, a lignite-based biofungicide of *T. pseudokoningii* (Nursery-Guard) has been prepared for the control of nursery diseases namely, stem canker, cutting rot, collar rot and die-back caused by *Botryodiplodia theobromae*, *F. solani*, *Phoma sorghina* and *B. theobromae*, respectively (Philip *et al.*, 2000; Gupta and Sarkar, 1999; Sharma, 1999). Information on effect of stress factors especially

* A part of the M.Sc. (Seric. Tech.) Dissertation submitted to University of Mysore, India.

alkalinity, salinity and drought with respect to growth and sporulation of these biocontrol agents is very meagre. Tolerance levels of these biocontrol agents against above factors by creating artificially suitable medium under *in vitro* conditions are highly desirable and easier to compare than testing at field level. Several workers have successfully screened the various biocontrol agents and pathogens tolerance to alkalinity, salinity and drought by creating artificially suitable media (Mandal *et al.*, 1996; Bhatnagar, 1996). Hence the present investigation has been undertaken to know the effect of different stress factors like alkalinity, salinity and drought on growth and sporulation of these biocontrol agents under *in vitro* conditions.

MATERIALS AND METHODS

1. Effect of alkalinity:

The effect of different alkalinity (pH) such as 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 and 10.5 was studied on the growth of *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* and *T. pseudokoningii*. The pH was adjusted by adding the solution of $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ (2 g of each dissolved one by one in 100 ml sterile distilled water) in medium drop by drop till the desired pH was obtained. After sterilization, the Potato Dextrose Agar (PDA) medium with different alkalinity was poured in sterilized Petri plates. After solidification of the medium, a 4 mm mycelial plug cut from actively growing colonies of different biocontrol agents, was kept separately in the centre of the Petri plates. The checks (pH 6.5) were also maintained without amending the alkaline components in PDA. Each treatment was replicated 5 times. The plates were incubated at $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ for 7 days. After incubation, the observations were recorded by measuring the radial growth of the different biocontrol agents.

2. Effect of salinity:

Salinity at various levels was created in PDA by mixing the different concentrations of NaCl such as 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 5.0 %. Later, Electrical conductivity (EC) and pH of the medium substituted by different concentrations of NaCl were observed by Conductivity Bridge 305 'Systronics' and Elico' digital pH meter model – LI – 122, respectively (Table I). A 4 mm diameter mycelial plug of three biocontrol agents were kept separately in Petriplates seeded with different salinity supplemented medium. The check of all the biocontrol agents was maintained in PDA separately without adding NaCl for comparison. Five replications were maintained for each treatment and the sets were incubated at $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$. After 7 days of incubation, the radial growth of different biocontrol agents was recorded.

3. Effect of drought stress:

Drought conditions were induced artificially by mixing a non-penetrating osmotic agent *i.e.* Polyethylene glycol (PEG – 6000; Hi media Co., India) in various concentrations *i.e.*, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 15% in PDA before autoclaving. The medium without PEG served as check for comparison. The osmotic water potential of PEG supplemented and without supplementation (check) of PDA medium was determined using a Osmometer Om – 801, Vogel and represented in terms of – bars (Table II). The medium after sterilization was poured in sterilized Petri plates. After solidification of the medium, a 4 mm mycelial disc of different biocontrol agents was placed separately in the centre of the Petri plates. Five replications were maintained for each treatment. The sets were incubated at $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ temperature for 7 days. After incubation, the radial growth of the different biocontrol agents was recorded.

4. Effect of alkalinity, salinity and drought on sporulation of biocontrol agents:

The effect of alkalinity, salinity and drought on sporulation was studied by inoculating the different biocontrol agents in Potato Dextrose Broth (PDB) separately. The different ranges of above factors were selected as similar to growth study. A quantity of 25 ml of PDB was taken in 250 ml

Erlenmeyer flasks and sterilized. A 4 mm diameter plug of each biocontrol agent was aseptically transferred to cooled broth. Each treatment comprised of 5 replications. The flasks were kept for incubation at $28^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ for 7 days. After incubation, the biomass of the biocontrol agents in the flasks were shaken well using an orbit shaker (3000 rpm) for 5 minutes to accumulate the spores in the medium after that the suspension was used for spore counting under the microscope using a haemocytometer.

5. Statistical analysis:

The pooled experimental data on effect of different stress factors like alkalinity, salinity and drought pertaining to growth and sporulation of *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* and *T. pseudokoningii* were analyzed using ANOVA test at 5 % significance level. Observation of sporulations/ml ($\times 10^7$) was transformed using $\log_{10}$ in order to satisfy the equal variance assumption of the analysis of variance.

RESULTS

1. Effect of alkalinity:

Maximum growth of *V. chlamydosporium* was recorded at pH such as 7.5, 8.0, 6.5 (check) and 8.5 with 85.00, 84.33, 81.00 and 80.60 mm mycelial growth, respectively without any significant difference. Above 8.5 pH, the mycelial growth declined significantly. The biocontrol agents like *T. harzianum* and *T. pseudokoningii* grew very well with pH ranging from 6.5 (check) to 9.0 with mycelial growth of 90.00 mm without any significant difference. The growth of these biocontrol agents was significantly reduced with pH above 9.0 and least mycelial growth was recorded with 10.5 pH. All the biocontrol agents sporulated very well with wide range of pH that is to say from 6.5 to 8.5 without any significant difference and maximum spore loads/ml was recorded at pH 7.5 followed by pH of 8.0, 8.5 and 6.5. The sporulation declined significantly with pH above 8.5 and it was completely nil at pH 10.5 (Table III).

Table 1. Salinity generated by different concentrations of NaCl.

Tableau I. Salinité générée par différentes concentrations de NaCl.

NaCl (%)	pH (Standby 7.57)	EC / CE (m. mhos/ cm) [Cell concentration in EC = 0.62]
	pH (Réserve 7,57)	[Concentration des cellules en CE = 0,62]
Check / Témoin	6.60	2.85
0.1	7.35	3.65
0.25	7.29	4.96
0.5	7.15	7.44
1.0	6.95	14.88
1.5	6.87	19.84
2.0	6.71	25.42
2.5	6.66	30.38
5.0	6.42	39.06

Table II. Osmotic water potential generated from different concentrations of PEG –6000.**Tableau II. Potentiel osmotique généré à partir de différentes concentrations de PEG – 6000.**

PEG (%)	Osmo meter reading Osmol/ Kg	Osmo meter reading Mili. Osmol/ Kg	Osmotic water potential (– bars)
	<i>Lecture de l'osmomètre Osmol / kg</i>	<i>Lecture de l'osmomètre Mili. Osmol/ Kg</i>	<i>Potentiel osmotique (– bars)</i>
Check / Témoin	0.002	2	– 2. 5
1	0.004	4	– 5. 5
2	0.010	10	– 7. 7
4	0.025	25	– 12. 5
6	0.037	37	– 14. 9
8	0.065	65	– 16. 3
10	0.097	97	– 18. 9
12	0.166	166	– 21. 6
15	0.205	250	– 28. 8

2. Effect of Salinity:

Among the different salinity, the maximum mycelial growth of *V. chlamydosporium* was recorded at 0.1 (86.00 mm) and 0.25% (85.50 mm) NaCl concentrations, which induced saline stress at the level of 3.65 and 4.96 m. mhos/cm of EC with a pH of 7.35 and 7.29, respectively (Table I). However, no significant difference was observed between the growths recorded in treated with NaCl (0.1 and 0.25 %) and check (without NaCl). The mycelial growth was significantly reduced with increased salinity level above 0.25% (0.5 to 2.5% levels) and there was no growth at 5.0% NaCl. In case of *T. harzianum*, the mycelial growth was observed with all the levels of salinity but it grew very well on par with the check (90 mm) with wide range of salinity that is to say from 0.1 to 2.5% NaCl concentrations with 90 mm mycelial growth (Table IV). With these ranges, the saline stress was induced from 3.65 to 30.38 m. mhos/cm of EC with pH ranges of 6.66 to 7.35. Whereas with higher NaCl concentration at 5.0% (EC 39.06 m. mhos/cm and pH 6.42), the growth was significantly reduced. However, in case of *T. pseudokoningii*, the maximum mycelial growth of 90 mm was observed from 0.1 to 1.0 % NaCl concentrations, which was similar to the growth of check (90.00 mm). The growth significantly declined from 1.5 % NaCl concentration. With regards to sporulation, the maximum spore load/ml of *V. chlamydosporium* was recorded at 0.1 and 0.25 % concentrations of NaCl, which was on par with check. However, *T. harzianum* and *T. pseudokoningii* sporulated very well at 0.1, 0.25, 0.50 and 1.0 % without any significant difference among these concentrations and check. Sporulation remarkably declined above 1.0% concentration in all the biocontrol agents (Table IV).

Table III. Effect of growth and sporulation of biocontrol agents under different alkalinity.

Tableau III. Croissance et sporulation des agents de lutte biologique avec différentes alcalinités.

pH	Biocontrol agents / Agents de lutte biologique					
	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Radial growth	Sporulation $\times 10^7$ /ml
	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml
6.5 (Check / témoin)	81.00	3.96 (1.59)	90.00	21.70 (3.14)	90.00	2.93 (1.42)
7.5	85.00	4.52 (1.66)	90.00	23.60 (3.20)	90.00	3.30 (1.45)
8.0	84.33	4.40 (1.65)	90.00	22.56 (3.16)	90.00	3.23 (1.44)
8.5	80.60	4.06 (1.62)	90.00	22.23 (3.16)	90.00	2.98 (1.43)
9.0	79.00	3.71 (1.50)	90.00	20.19 (3.05)	90.00	2.14 (1.13)
9.5	74.00	2.79 (1.33)	25.00	6.79 (2.05)	40.00	1.74 (1.00)
10.0	11.66	1.35 (0.85)	6.00	0.04 (0.03)	15.66	0.01 (0.01)
10.5	7.00	0.00 (0.00)	2.00	0.00 (0.00)	9.33	0.00 (0.00)
SE $\pm$	1.52	0.12 (0.027)	1.17	0.42 (0.021)	0.97	0.12 (0.01)
CD at 5 %	4.57	0.38 (0.08)	3.51	1.26 (0.06)	2.92	0.37 (0.30)
CV %	4.20	7.17 (3.73)	3.37	5.02 (1.63)	2.62	9.99 (6.17)

Figures in parentheses are log-transformed values / Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs log transformées

Table IV. Effect of growth and sporulation of biocontrol agents under different salinity.

Tableau IV. Croissance et sporulation des agents de lutte biologique avec différentes salinités.

Biocontrol agents / Agents de lutte biologique						
Salinity (%)	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml
Salinité (%)	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml	Croissance radiale (mm)	Sporulation $\times 10^7$ /ml
Check / Témoin	90.00	3.03 (1.39)	90.00	22.56 (3.16)	90.00	2.79 (1.33)
0.1	86.00	2.96 (1.37)	90.00	21.89 (3.13)	90.00	2.47 (1.24)
0.25	85.50	2.79 (1.31)	90.00	21.80 (3.13)	90.00	2.39 (1.21)
0.50	65.00	0.88 (0.62)	90.00	21.66 (3.12)	90.00	2.11 (1.13)
1.0	41.66	0.26 (0.23)	90.00	16.55 (2.76)	90.00	2.04 (1.10)
1.5	40.00	0.11 (0.10)	90.00	13.03 (2.64)	80.00	1.46 (0.89)
2.0	21.66	0.061 (0.05)	90.00	10.66 (2.54)	71.66	1.09 (0.73)
2.5	8.33	0.0063 (0.0)	90.00	8.97 (2.29)	62.66	0.40 (0.33)
5.0	0.00	0.00 (0.00)	68.33	1.06 (0.01)	58.66	0.09 (0.01)
SE $\pm$	1.56	0.06 (0.03)	2.73	0.37 (0.02)	1.48	0.14 (0.05)
CD at % (P=0.05)	4.63	0.26 (0.09)	80.12	1.11 (0.07)	4.41	0.44 (0.15)
CV %	5.73	12.61 (10.98)	5.40	4.28 (1.66)	3.20	15.82 (10.13)

Figures in parentheses are log-transformed values / Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs log transformées.

3. Effect of Drought:

The maximum mycelial growth of *V. chlamydosporium* of 88.00 and 80.50 mm was achieved in low moisture stress conditions where PEG was used at 1.0 and 2.0% concentrations, which created an osmotic stress of -5.5 and -7.7 bars, respectively. Statistically, the difference of mycelial growth

between check (90.00 mm; medium without PEG) and above concentrations of PEG was found non significant. Similar observations were also recorded in case of *T. pseudokoningii*. However, the mycelial growth of *V. chlamydosporium* and *T. pseudokoningii* significantly decreased with increase in moisture stress conditions (4 - 12 % PEG) and the growth was completely nil at 15 % PEG. *T. harzianum* was able to grow very well at high moisture stress conditions up to the level of 8% PEG (90.00 mm), which was on par with the check (90.00 mm).

Table V. Effect of growth and sporulation of biocontrol agents under different water potentials (PEG concentrations).

Tableau V. Croissance et sporulation des agents de lutte biologique sous différents potentiels en eau (concentrations PEG).

PEG (%)	Biocontrol agents / Agents de lutte biologique					
	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	Radial growth (mm)	Sporulation $\times 10^7$ / ml	Radial growth	Sporulation $\times 10^7$ / ml	Radial growth	Sporulation $\times 10^7$ / ml
	<i>V. chlamydosporium</i>		<i>T. harzianum</i>		<i>T. pseudokoningii</i>	
	<i>Croissance radiale (mm)</i>	<i>Sporulation $\times 10^7$ / ml</i>	<i>Croissance radiale (mm)</i>	<i>Sporulation $\times 10^7$ / ml</i>	<i>Croissance radiale (mm)</i>	<i>Sporulation $\times 10^7$ / ml</i>
Check / Témoin	90.00	3.26 (1.47)	90.00	22.50 (3.15)	90.00	2.60 (1.37)
1.0	88.00	3.04 (1.39)	90.00	21.90 (3.13)	85.00	2.39 (1.28)
2.0	80.50	3.00 (1.38)	90.00	21.00 (2.99)	83.80	2.35 (1.28)
4.0	70.00	2.52 (1.25)	90.00	19.08 (2.77)	55.66	1.36 (0.85)
6.0	58.00	1.37 (0.86)	90.00	15.03 (2.69)	38.66	0.93 (0.65)
8.0	50.00	1.01 (0.69)	90.00	13.10 (2.64)	26.66	0.47 (0.65)
10.0	45.00	0.69 (0.52)	25.00	4.24 (1.65)	16.00	0.008 (0.37)
12.0	10.00	0.02 (0.02)	10.00	0.27 (0.20)	7.66	0.001 (0.01)
15.0	0.00	0.00 (0.00)	3.33	0.00 (0.00)	0.00	0.00 (0.00)
SE $\pm$	3.05	0.08 (0.03)	1.25	0.59 (0.003)	2.08	0.08 (0.04)
CD at 5 % (P=0.05)	9.06	0.26 (0.09)	3.74	1.77 (0.10)	6.19	0.25 (0.11)
CV %	9.68	7.94 (6.08)	3.39	7.99 (2.82)	8.24	12.4 (11.19)

Figures in parentheses are log-transformed values / Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs logarithmiques transformées.

The mycelial growth significantly declined with extremely high levels of stress i.e. 10-15% PEG in which the water potential ranged from -18.9 to -28.8 bars (Tables II & V). All the biocontrol agents showed sporulation at varying degree with all the stress conditions studied except 15% PEG and sporulation was decreased with increasing concentrations of PEG. The maximum sporulation was noticed up to 2.0 % PEG without any significant difference as compared to check while sporulation was reduced significantly at PEG concentrations ranging from 4 -12 % in all the biocontrol agents.

DISCUSSION

Coyne (1999) reported that soil alkalinity, salinity and drought are principle factors responsible for deterioration of microbial growth in soil. He defined that alkalinity of soil depends upon the pH and the soil pH between 7.5 - 8.5 is considered to be slightly alkaline category while pH more than 8.5 is categorized as highly alkaline. Soil is considered to be saline when the electrical conductivity is more than 4 m. mhos/cm and pH is less than 8.5. Drought (water stress) tolerance of any microbes depends upon degree and duration of water deficit and microbes have their own potentiality of water (osmotic potential) for growth and multiplication. The osmotic potential in microbes is negative due to the solute present in cytoplasm such as inorganic nutrients, amino acids, carboxylic acids and carbohydrates.

In the present study, the growth and sporulation of all biocontrol agents were reduced significantly in high alkaline range of pH (after 8.5) and grew well at pH range of 6.5 to 8.5. The best sporulation was also obtained at similar range of pH without any significant difference. Though except *V. chlamydosporium*, rest of the biocontrol agents grew well at pH 9.0 without any significant difference as compared to the pH range of 6.5 to 8.5, in fact they did not significantly sporulate at pH 9.0. The spores of biocontrol agents are the main propagules for their multiplication, which provide the best survival in soil (Papavizas, 1985). Similarly, DeLeij *et al.* (1993) have also observed that 10^4 cfu of *V. chlamydosporium*/g soil have established the fungus well in soil and proved to be effective for the control of the disease. Thus the optimum pH for best growth and sporulation of all the biocontrol agents was considered as 6.5 to 8.5. These observations were confirmed with the findings of Bansal *et al.* (1991) who reported that a nematode destroying fungus, *Paecilomyces lilacinus* survived very well with a pH range of 5-9. Similarly, the species of *Trichoderma* survived and sporulated well at acidic to slightly alkaline pH (Mandal *et al.*, 1996; Bhatnagar, 1996). In the present study, all the biocontrol agents were able to grow and sporulate very well at low saline stress of 3.65 to 4.96 m mhos/cm (0.1 and 0.25 % NaCl concentrations). At these levels, the growth and sporulation of biocontrol agents were recorded as similar to check without any significant difference. This clearly indicates that the selected biocontrol agents are moderately tolerant to salinity. It was also noted that a significant reduction in growth and sporulation occurred at higher salinity levels. This meant that the higher salinity might be affecting the survivability of biocontrol agents. With regards to drought, the selected biocontrol agents survived very well at low moisture stress condition of -5.5 to -7.7 bars (up to 2 % PEG) on par with the check (medium without PEG) without any significant difference on growth and sporulation. These results indicate that the selected biocontrol agents are moderately tolerant to drought. Similar observations were made by Panicker and Jeyarajan (1991) who reported that antagonists like *T. harzianum* and *T. viride* were able to sporulate well at low stress condition of -4.54 bars while at higher stress they did not sporulate well. The significant reduction in growth and sporulation of the biocontrol agents at higher concentration of PEG (4 -15 %) might be due to high stress created by non-penetrating osmotic agent, which lowers the water potential in the medium. This suggested that keeping the drought for longer duration in mulberry gardens might affect the growth and sporulation of the selected biocontrol agents considerably.

It can be concluded from the present study that acidic to slightly alkaline range of pH (6.5 to 8.5) are most favourable for optimum growth and sporulation of *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* and

T. pseudokoningii. These biocontrol agents are acidophilic to slightly alkalophilic in nature and moderately tolerant to salinity (saline stress at the level of 3.65–4.96 m mhos/cm EC) and drought (at osmotic stress of – 5.5 to – 7.7 bars). Hence, bioformulations of **Bionema**, **Raksha** and **Nursery-Guard** will colonize well to suppress the pathogens population under above ecological conditions.

REFERENCES

- BAKER K. F. & COOK R. J. (1974) Biological control of plant pathogens. Freeman and Company, San Francisco, pp. 218.
- BANSAL R. K., WALIA R. K. & BHATTI D. S. (1991) Effect of pH and temperature on the nematode destroying fungus, *Paecilomyces lilacinus*. J. Biol. Control, 5, 36-38.
- BHATNAGAR H. (1996). Influence of environmental conditions on antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium udum*. Indian. J. Mycol. Pl. Pathol., 26, 58-63.
- COYNE M. S. (1999) Soil Microbiology: An Exploratory Approach. Delmar Publisher, New York.
- DANDIN S. B., JAYASWAL J. & GIRIDHAR K. (2000) Hand Book of Sericulture Technologies. Central Silk Board, Bangalore, India.
- DELEIJ F. A. A. M., KERRY B. R. & DENNEHY J. A. (1993) *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pots and microplots tests. Nematologica, 39, 115-126.
- GUPTA V. P. & SARKAR A. (1999) Management of diseases in mulberry nurseries for better sapling survivability and growth. Indian Farming, 49, 15-16.
- JOLLY M. S. (1987) Appropriate Sericulture Techniques. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.
- MANDAL G, SRIVASTAVA K. D., AGGARWAL, R. & SINGH D. V. (1996) Population dynamics of *Trichoderma viridi* and *T. konigii* under different ecological conditions. Indian J. Microbiol., 36, 165-166.
- PANICKER S. & JAYARAJAN R. (1991) Effect of osmotic water potential on growth and sporulation of *Trichoderma* spp. and *Rhizoctonia solani* Kuhn. Indian J. Mycol. Pl. Pathol., 21, 254-256.
- PAPAVIZAS G. C. (1985) *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol., 23, 23-54.
- PHILIP T., SHARMA D. D., GOVINDIAH (2000) Development of a talc based biofungicide using *Trichoderma harzianum* and its effect on mulberry root rot disease. Sericologia, 40, 637-642.
- SHARMA D. D. (1999) Root knot disease of mulberry and its management. Indian Farming, 49, 20-24.

EFFET DE DIFFERENTS FACTEURS DE STRESS DU SOL SUR LA CROISSANCE ET LA SPORULATION DES AGENTS DE LUTTE BIOLOGIQUE EFFICACES CONTRE LES MALADIES DU MURIER*

D. D. SHARMA, PALLAB KUMAR DAS & V. NISHITHA NAIK

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

Nous avons étudié les effets de différents facteurs de stress du sol comme l'alcalinité, la salinité et la sécheresse (déficit en eau / stress d'humidité du sol) sur la croissance et la sporulation de *Verticillium chlamydosporium*, *Trichoderma harzianum* et *T. pseudokoningii* in vitro. Ces agents de lutte biologique sont très antagonistes contre la galle des racines, la pourriture des racines et les maladies de pépinière du mûrier. On enregistre la croissance et la sporulation maximum de tous agents de lutte biologique avec un pH légèrement alcalin de 7,5 ; 8 et 8,5 comme avec le témoin [milieu agar de dextrose de pomme de terre (PDA) au pH de 6,5]. On a étudié l'effet de différentes salinités (créées en ajoutant du NaCl dans du PDA), tous les agents de lutte biologique sont capables de pousser et de sporuler très bien avec un faible stress salin de 3,65 à 4,96 m mhos / cm (0,1 et 0,25 % NaCl). La croissance et la sporulation baissent avec l'augmentation du niveau de salinité au-dessus de 0,25 %. Concernant l'effet de différentes conditions de sécheresse (créées par PEG 6000) on obtient la croissance mycéliale et la sporulation maximum de tous les agents de lutte biologique dans des conditions de faible stress en humidité (concentrations de PEG de 1 et 2 %) ainsi que chez le témoin (milieu sans PEG). La croissance mycéliale et la sporulation baissent de manière significative avec des niveaux extrêmement élevés de stress, c'est à dire 10 à 15 % de PEG. Cette étude indique donc que les trois agents de lutte biologique sont de nature acidophile à légèrement alcalophile et tolèrent modérément la salinité et la sécheresse.

INTRODUCTION

Les agents de lutte biologique jouent un rôle important pour lutter contre des maladies variées des plantes chez les cultures annuelles et vivaces dont le mûrier. Ils diminuent la densité des pathogènes par leur introduction en masse dans le sol (Baker et Cook, 1974). On cultive le mûrier (*Morus* spp.) dans différentes conditions de sol dont l'alcalinité, la salinité et la sécheresse (déficit en eau / stress d'humidité du sol) etc.. (Jolly, 1987 ; Dandin et coll., 2000). Ces facteurs jouent un rôle vital sur la survie et la multiplication des agents de lutte biologique dans le sol (Baker et Cook, 1974). Récemment, le CSRTI de Mysore a mis au point un bio-fongicide et un bionémicide à base de talc nommés Raksha et Bionema en utilisant *Trichoderma harzianum* et *Verticillium chlamydosporium* pour lutter respectivement contre la pourriture de la racine (*Fusarium solani* / *F. oxysporum*) et la galle de la racine (*Meloidogyne incognita*) chez le mûrier. De même, on a préparé un fongicide biologique de *T. pseudokoningii* à base de lignite (nursery-guard) pour lutter contre les maladies des pépinières à savoir, le chancre de la tige, la pourriture de la taille, la pourriture du collet et le dogare provoquées respectivement par *Botryodiplodia theobromae*, *F. solani*, *Phoma sorghina* et

* Partie d'un mémoire de Maîtrise (Tech. Seric.) soumis à l'Université de Mysore, Inde.

B. theobromae (Philip et coll., 2000 ; Gupta et Sarkar, 1999 ; Sharma, 1999). Il existe très peu d'informations sur l'effet des facteurs de stress surtout de l'alcalinité, de la salinité et de la sécheresse sur la croissance et la sporulation de ces agents de lutte biologique. Les niveaux de tolérance de ces agents de lutte biologique vis à vis des facteurs ci-dessus sont plus aisément comparables en utilisant un milieu artificiel adapté à une étude *in vitro* plutôt qu'en les testant sur le terrain. Plusieurs chercheurs ont évalué avec succès les agents de lutte biologique et la tolérance à l'alcalinité, à la salinité et à la sécheresse des pathogènes en créant un milieu artificiellement adapté (Mandal et coll., 1996 ; Bhatnagar, 1996). Nous avons donc entrepris cette étude pour connaître l'effet des différents facteurs de stress comme l'alcalinité, la salinité et la sécheresse sur la croissance et la sporulation de ces agents de lutte biologique dans des conditions *in vitro*.

MATERIELS ET METHODES

1. Effet de l'alcalinité :

On étudie l'effet de différentes alcalinités (pH) de 7,5 ; 8 ; 8,5 ; 9 ; 9,5 ; 10 et 10,5 sur la croissance de *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* et *T. pseudokoningii*. On ajuste le pH en ajoutant la solution de $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ (2g de chaque dissous un par un dans 100 ml d'eau distillée stérile) goutte à goutte dans le milieu jusqu'à ce qu'on obtienne le pH désiré. Après stérilisation, on verse le milieu d'agar de dextrose de pomme de terre (PDA) avec différentes alcalinités dans des boîtes de Petri stérilisées. Après solidification du milieu, on conserve séparément au centre des boîtes de Petri un tampon mycéliel des différents agents de lutte biologique de 4mm découpé sur des colonies en croissance. On maintient les témoins (pH 6,5) sans changer les composants alcalins dans du PDA. On répète chaque traitement 5 fois. On incube les boîtes à $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 7 jours. Après l'incubation, on mesure la croissance radiale des différents agents de lutte biologique.

2. Effet de la salinité :

On a créé différents niveaux de salinité dans du PDA en mélangeant les différentes concentrations de NaCl de 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 et 5 %. Ensuite, on observe la conductivité électrique (CE) et le pH du milieu aux différentes concentrations de NaCl avec respectivement un pont de conductivité 305 – Systronics et un pH mètre digital Elico modèle LI –22 (Tableau I). On applique séparément un tampon mycéliel de 4 mm de diamètre des trois agents de lutte biologique dans les boîtes de Petri des différents milieux supplémentés en sel. On maintient un témoin de tous les agents de lutte biologique séparément dans du PDA sans ajouter de NaCl. On maintient cinq répétitions pour chaque traitement et on incube les lots à $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$. Au bout de 7 jours d'incubation, on enregistre la croissance radiale des différents agents de lutte biologique.

3. Effet du stress créé par la sécheresse :

On induit des conditions de sécheresse artificielle en mélangeant un agent osmotique non-pénétrant, c'est à dire du polyéthylène glycol (PEG – 6000 ; Hi media Co., Inde) à des concentrations variées c'est à dire de 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 et 15 % dans du PDA avant le passage à l'autoclave. Le milieu sans PEG sert de témoin pour la comparaison. On détermine le potentiel osmotique du milieu PDA supplémenté avec du PEG et sans supplémentation (témoin) en utilisant un osmomètre Om –801, Vogel ; les données sont fournies en – bars (Tableau II). On verse le milieu après stérilisation dans les boîtes de Petri. Après la solidification du milieu, on place séparément un disque mycéliel de 4 mm des différents agents de lutte biologique au centre des boîtes de Petri stérilisées. On maintient cinq répétitions de chaque traitement. On incube les lots à une température de $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 7 jours. Après l'incubation, on enregistre la croissance radiale des différents agents de lutte biologique.

4. Effet de l'alcalinité, de la salinité et de la sécheresse sur la sporulation des agents de lutte biologique :

On a étudié l'effet de l'alcalinité, de la salinité et de la sécheresse sur la sporulation en inoculant séparément les différents agents de lutte biologique dans un bouillon de dextrose de pomme de terre (PDB). Les mêmes doses des facteurs ci-dessus que pour l'étude de la croissance ont été sélectionnées. On prend une quantité de 25 ml de PDB dans des flasques Erlenmeyer de 250 ml et on les stérilise. On transfère un tampon de 4 mm de diamètre de chaque agent de lutte biologique dans un bouillon refroidi. Chaque traitement comprend 5 répétitions. On conserve les flasques pour l'incubation à $28^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ pendant 7 jours. Après incubation ; on secoue la biomasse des agents de lutte biologique en utilisant un secoueur orbital (3000 tpm) pendant 5 minutes pour accumuler les spores dans le milieu après quoi la suspension est utilisée pour compter les spores sous un microscope en utilisant un hémocytomètre.

5. Analyse statistique :

On analyse les données expérimentales regroupées sur l'effet des différents facteurs de stress comme l'alcalinité, la salinité et la sécheresse concernant la croissance et la sporulation de *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* et *T. pseudokoningii* en utilisant le test d'ANOVA au seuil de signification de 5 %. On transforme l'observation des sporulations / ml ($\times 10^7$) en utilisant $\log_{10}$ de manière à satisfaire l'hypothèse de variance égale concernant l'analyse de variance.

RESULTATS

1. Effet de l'alcalinité :

On enregistre la croissance maximum de *V. chlamydosporium* avec un pH de 7,5 ; 8 ; 6,5 (témoin) et de 8,5 avec respectivement 85 ; 84,33 ; 81 et 80,60 mm de croissance mycéliale sans aucune différence significative. Au-dessus de 8,5 de pH, la croissance mycéliale baisse de manière significative. Les agents de lutte biologique comme *T. harzianum* et *T. pseudokoningii* croissent très bien avec un pH compris entre 6,5 (témoin) et 9 avec une croissance mycéliale de 90 mm sans aucune différence significative. La croissance de ces agents de lutte biologique diminue de manière significative avec un pH au-dessus de 9 et on enregistre la croissance mycéliale la plus faible avec un pH de 10,5. Tous les agents de lutte biologique sporulent très bien dans une fourchette de pH étendue c'est à dire de 6,5 à 8,5 sans aucune différence significative et on enregistre des charges maximum en spores / ml avec un pH de 7,5 suivi par un pH de 8 ; 8,5 et 6,5. La sporulation baisse de manière significative avec un pH au-dessus de 8,5 et elle est complètement nulle avec un pH de 10,5 (Tableau III).

2. Effet de la salinité :

Parmi les différentes salinités, on enregistre la croissance mycéliale maximum de *V. chlamydosporium* avec des concentrations en NaCl de 0,1 (86 mm) et de 0,25 % (85,50 mm) qui induisent un stress salin d'un niveau de 3,65 et 4,96 m. mhos / cm de CE avec un pH respectivement de 7,35 et de 7,29 (Tableau I). Cependant, on n'observe pas de différence significative entre les croissances enregistrées avec les traitements en NaCl de 0,1 et 0,25 % et le témoin (sans NaCl). La croissance mycéliale diminue de manière significative avec l'augmentation du niveau de la salinité au-dessus de 0,25 % (niveaux de 0,5 à 2,5 %) et il n'y a pas de croissance avec 5 % de NaCl. Dans le cas de *T. harzianum*, on observe la croissance mycéliale avec tous les niveaux de salinité et il croît aussi bien que le témoin (90 mm) dans une grande fourchette de salinité, c'est à dire de 0,1 à 2,5 % de concentrations NaCl avec une croissance mycéliale de 90 mm (Tableau IV). Dans ces fourchettes, le stress salin induit est de 3,65 à 30,38 m. mhos / cm de CE avec un pH compris entre 6,66 et 7,35. Tandis qu'avec une concentration plus élevée en NaCl de 5 % (CE de 39,06 m. mhos / cm et un pH de 6,42) la croissance diminue significativement. Cependant, dans le cas de *T. pseudokoningii*, on

observe la croissance mycéliale maximum de 90 mm entre 0,1 à 1 % de NaCl ce qui est similaire à la croissance du témoin (90 mm). La croissance baisse de manière significative à partir d'une concentration en NaCl de 1,5 %. Concernant la sporulation, on enregistre la charge maximum en spores / ml de *V. chlamydosporium* comparable à celle du témoin avec des concentrations de 0,1 et 0,25 % en NaCl. Cependant, *T. harzianum* et *T. pseudokoningii* sporulent très bien à 0,1 ; 0,25 ; 0,50 et 1 % sans différence significative entre ces concentrations et le témoin. La sporulation baisse considérablement avec une concentration supérieure à 1 % chez tous les agents de lutte biologique (Tableau IV).

3. Effet de la sécheresse :

On obtient la croissance maximum de *V. chlamydosporium* de 88 et 80,50 mm dans des conditions de faible stress en humidité avec un PEG à des concentrations de 1 et de 2 %, ce qui crée respectivement un stress osmotique de -5,5 et -7,7 bars. Statistiquement, la différence de croissance mycéliale entre le témoin (90 mm ; milieu sans PEG) et les concentrations ci-dessus de PEG ne s'avère pas significative. On enregistre des observations similaires pour *T. pseudokoningii*. Cependant, la croissance mycéliale de *V. chlamydosporium* et de *T. pseudokoningii* baisse de manière significative avec l'augmentation des conditions de stress en humidité (4 à 12 % de PEG) et la croissance est complètement nulle avec un PEG de 15 %. *T. harzianum* est capable de pousser très bien dans des conditions de stress en humidité importantes jusqu'à un niveau de PEG de 8 % (90 mm), ce qui est à égalité avec le témoin (90 mm).

La croissance mycéliale baisse de manière significative avec des niveaux extrêmement élevés de stress c'est à dire de 10 à 15 % de PEG pour lesquels le potentiel en eau est compris entre -18,9 et -28,8 barres (Tableaux II & V). Tous les agents de lutte biologique présentent une sporulation à un degré varié avec toutes les conditions de stress étudiées sauf avec 15 % de PEG et la sporulation diminue avec l'augmentation des concentrations en PEG. La sporulation maximum est obtenue avec 2 % de PEG sans aucune différence significative avec le témoin tandis que la sporulation diminue de manière significative avec des concentrations de PEG comprises entre 4 et 12 % chez tous les agents de lutte biologique.

DISCUSSION

Coyne (1999) a rapporté que l'alcalinité, la salinité et la sécheresse du sol sont les principaux facteurs responsables de la détérioration de la croissance microbienne dans le sol. Il a établi que l'alcalinité du sol dépend du pH et un pH de sol entre 7,5 et 8,5 est considéré comme légèrement alcalin tandis qu'un pH supérieur à 8,5 est considéré comme très alcalin. On considère que le sol est salin quand la conductivité électrique est supérieure à 4 m. mhos/cm et que le pH est inférieur à 8,5. La tolérance à la sécheresse (stress hydrique) par les microbes dépend du degré et de la durée du déficit en eau et les microbes ont leur propre potentiel en eau (potentiel osmotique) pour leur croissance et leur multiplication. Le potentiel osmotique des microbes est négatif en raison du soluté présent dans le cytoplasme tels que les nutriments inorganiques, les acides aminés, les acides carboxyliques et les hydrates de carbone.

Dans notre étude, la croissance et la sporulation de tous les agents de lutte biologique diminuent de manière significative dans une fourchette de pH très alcalin (au-dessus de 8,5) et sont bien actives dans une fourchette de pH de 6,5 à 8,5. On obtient aussi la meilleure sporulation dans une fourchette de pH similaire sans aucune différence significative. A l'exception de *V. chlamydosporium*, le reste des agents de lutte biologique croît bien avec un pH de 9 sans aucune différence significative avec un pH compris entre 6,5 et 8,5, en fait ils ne sporulent pas de manière significative avec un pH de 9. Les spores des agents de lutte biologique sont les principaux propagateurs, qui permettent de mieux survivre dans le sol (Papavizas, 1985). DeLeij et coll., (1993) ont aussi observé que 10^4 cfu de *V. chlamydosporium* / g de sol établissent bien le champignon dans le sol et s'avèrent efficaces pour

lutter contre la maladie. On considère donc que le pH optimum pour obtenir les meilleures croissance et sporulation de tous les agents de lutte biologique se situe entre 6,5 et 8,5. Les études de Bansal et coll., (1991) qui ont rapporté qu'un champignon détruisant un nématode, *Paecilomyces lilacinus* survit très bien dans une fourchette de pH compris entre 5 et 9 confirment ces observations. De même, les espèces de *Trichoderma* survivent et sporulent bien avec un pH acide à légèrement alcalin (Mandal et coll., 1996 ; Bhatnagar, 1996). Dans cette étude, tous les agents de lutte biologique croissent et sporulent très bien avec un faible stress salin de 3,65 à 4,96 m mhos / cm (concentrations en NaCl de 0,1 et 0,25 %). A ces niveaux, on enregistre que la croissance et la sporulation des agents de lutte biologique sont similaires à celles des témoins sans aucune différence significative. Cela indique clairement que les agents de lutte biologique sélectionnés tolèrent modérément la salinité. On remarque aussi qu'il se produit une baisse significative de la croissance et de la sporulation avec des niveaux de salinité plus élevés. Cela signifie qu'une salinité plus élevée pourrait avoir un effet sur la survie des agents de lutte biologique. En ce qui concerne la sécheresse, les agents de lutte biologique survivent très bien dans une condition de faible stress en humidité de -5,5 à -7,7 bars (jusqu'à 2 % de PEG) à égalité avec le témoin (milieu sans PEG) sans aucune différence significative sur leur croissance et leur sporulation. Ces résultats indiquent que les agents de lutte biologique tolèrent modérément la sécheresse. Panicker et Jeyarajan (1991) ont rapporté des observations similaires selon lesquelles des antagonistes comme *T. harzianum* et *T. viride* sont capables de bien sporuler avec une faible condition de stress de -4,54 tandis qu'avec un stress plus élevé, ils ne sporulent pas bien. La baisse significative de la croissance et de la sporulation des agents de lutte biologique avec une concentration plus élevée en PEG (4 à 15 %) pourrait être due à un stress élevé créé par un agent osmotique non pénétrant, qui baisse le potentiel en eau du milieu. Cela suggère que le maintien de la sécheresse pendant une longue durée dans les mûraies pourrait avoir un effet considérable sur la croissance et la sporulation des agents de lutte biologique sélectionnés.

D'après cette étude, on peut conclure qu'une fourchette de pH acide à légèrement alcalin (6,5 à 8,5) est des plus favorable pour la croissance et la sporulation optimum de *V. chlamydosporium*, *T. harzianum* et *T. pseudokoningii*. Ces agents de lutte biologique sont de nature acidophile à légèrement alkalophile et tolèrent modérément la salinité (stress salin d'un niveau de 3,65 à 4,96 m mhos / cm de CE) et la sécheresse (stress osmotique de -5,5 à -7,7 bars). Ainsi, dans les conditions écologiques ci-dessus les bioformulations de **Bionema**, **Raksha** et **Nursery-Guard** doivent permettre une bonne colonisation pour supprimer la population de pathogènes.

GENETIC DIVERGENCE IN SOME MULBERRY GENOTYPES

M. S. RAHMAN*, M. A. BARI¹ & O. I. JOARDER²

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1. Professor, Institute of Biological Sciences, Rajshahi University, Bangladesh.

2. Professor, Department of Genetics & Breeding, Rajshahi University, Bangladesh.

Genetic divergence of 45 mulberry genotypes was studied using Mahalanobis D^2 Statistics. The analysis revealed significant genetic diversity among the genotypes. Based on D^2 values the genotypes under study were grouped into XI distinct clusters. The clusters were not purely guided by the geographical diversity. Maximum and minimum intra cluster distance was found in cluster XI (23.44) and cluster VI (1.91) respectively. The highest inter cluster distance was observed between cluster VI and X (79.74) and lowest between cluster I and III (5.51). Cluster VIII showed the highest mean for total branch, total branch height, total stem weight and total leaf yield / plant. Cluster IX exhibited minimum values for height of the longest shoot, stem girth, leaf area, leaf weight, total stem weight, moisture percentage and total leaf yield. Minimum values for total branch number and total branch height were found in cluster X. The highest contribution towards the genetic diversity was exhibited by moisture percentage followed by total branch number / plant, total stem weight, total leaf yield and leaf weight. High mean value of different characters and inter cluster distance might be considered for selection of parental stocks for future breeding programs.

INTRODUCTION

The success of hybridization for varietal improvement depends on the selection of parents involved in the cross. Generally a cross between genetically diverse parents display a greater heterosis than those between the closely related parents and also more variability could be expected in the segregating generation (Rao, 1952). Thus genetic diversity plays an important role in plant breeding for any varietal improvement. The knowledge on genetic divergence of available germplasm material is essential to identify and select the diverse genotypes with more accuracy for the purpose of hybridization program. D^2 statistics proposed by Mahalanobis (1936) is widely used for quantifying the degree of genetic divergence among the population. This technique also provides the information on the magnitude of genetic diversification at intra as well as inter cluster levels.

Owing to the highly heterozygous nature of the mulberry plant, segregation takes place in F_1 progenies with broad spectrum of variability making selection possible in F_1 generation (Das and Krishnaswami, 1965 and Sarkar and Fujita, 1993). As mulberry has the potentiality to propagate vegetatively, the exploitation of hybrid vigour or heterosis will be promising because once a good character is obtained it can be maintained and propagated by vegetative means. Due to these two advantages of mulberry, there is a great opportunity to improve the varietal status through hybridization. For this purpose mulberry breeders require information on genetic divergence present in the available germplasm materials. Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi is maintaining about 55 mulberry genotypes in its germplasm bank. But till today these

* Author for corresponding : Dr Md Saidur Rahman, Research Officer, Bangladesh Sericulture and Training Institute, P. O. Ghoramara, Dist. Rajshahi, Bangladesh.

genotypes have not been evaluated to estimate about the magnitude of genetic divergence existing among the genotypes. In the present investigation, an attempt has been made to obtain information on the genetic divergence existing among the genotypes and making groups according to their merit of genetic diversification.

MATERIALS AND METHODS

Forty five mulberry genotypes including both exotic and indigenous in origin maintained in the germplasm bank of Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi were used in this study. The plants were raised under row to row and plant to plant spacing of 152.50 cm and 120.0 cm respectively. Cultural practices were given as and when needed for normal cultivation. Data were collected four times in a year and continued for three consecutive years. Ten leaf yield and its component characters i.e. total branch number / plant, total branch height / plant, height of the longest shoot, nodes / meter shoot length, stem girth, leaf area, leaf weight, total stem weight / plant, moisture percentage and total leaf yield / plant were considered in this study. The analysis of genetic diversity was worked out by using D^2 statistics as proposed by Mahalanobis (1936). Clustering of genotypes was done following the method suggested by K. D. Tocher (Rao, 1952).

RESULTS AND DISCUSSION

Mahalanobis D^2 values of all possible combinations were calculated and on the basis of these values, 45 mulberry genotypes were grouped in XI distinct clusters as shown in Table I. The clustering pattern of the genotypes clearly indicated that the clusters were not purely guided by the geographical diversity. In the present study it was found that some genotypes of different origin fell into the same cluster while the genotypes from the same geographical area were placed in different clusters. Cluster I is the largest group composed of 12 genotypes originated both from Bangladesh and India. Same situation is also found in cluster II, III and V. In cluster VII, out of four genotypes, 3 originated from Bangladesh while another one (BSRM-21) originated from China. Cluster XI is the second largest group also composed of genotypes of different geographical origin. Joshi and Dhawan (1960) and Ram and Panwar (1970) indicated that genetic diversity is generally associated with geographical diversity. But Murthy and Arunachalam (1966) and Singh and Gupta (1968) observed that genetic diversity is not necessarily directly related with geographical distribution. Similar results were also reported by Dasgupta and Das (1984) in wheat, Saini and Kaicker (1987) in sugar beat and Golakiya and Makne (1992) in groundnut. Rajan and Sarkar (1998) also reported similar results in mulberry. Cluster IV, VI, VIII, IX and X consisted of genotypes from same geographical region showing similar architecture among the genotypes included in the cluster. Such parallelism was also reported by Shanmugam and Rengasamy (1982) and Chawdhury *et al.* (1999). From the above findings and discussion it could be concluded that genetic diversity is not necessarily directly related to geographical diversity and more importance should be given on genetic diversity in selection of parents for breeding program.

Average intra and inter cluster distance as shown in Table II revealed wide range of intra as well as inter-cluster distances. Maximum intra cluster distance was found in cluster XI (23.44) and minimum in cluster VI (1.91). The highest inter-cluster distance was observed between cluster VI and X (79.74) and lowest between cluster I and III (5.51).

Cluster means in respect of all 10 leaf yield and its component characters are shown in Table III along with contribution of each character towards the diversity. Cluster VIII showed the highest cluster mean for total branch number (44.20), total branch height (31.38m), total stem weight (0.9408 kg) and total leaf yield / plant (1.4802 kg).

Table I. Formation of clusters of 45 mulberry genotypes on the basis of D^2 values.**Tableau I. Formation de groupes à partir de 45 génotypes de mûrier sur la base des valeurs D^2 .**

Cluster	Number of genotypes / Nombre de génotypes			Genotypes	Place of origin / source
	Exotic	Indigenous	Total		
Groupe	Exotiques	Indigènes			Lieu d'origine / source
I	6	6	12	BSRM-17	India / Inde
				BSRM-27	Bangladesh
				BSRM-33	Do
				BSRM-34	Do
				BSRM-36	Do
				BSRM-38	Do
				BSRM-40	India / Inde
				BSRM-41	Do
				BSRM-42	Do
				BSRM-43	Do
				BSRM-44	Do
II	1	2	3	BSRM-45	Bangladesh
				BSRM-6	Bangladesh
				BSRM-15	India / Inde
III	1	1	2	BSRM-26	Bangladesh
				BSRM-27	Bangladesh
IV	-	3	3	BSRM-39	India / Inde
				BSRM-25	Bangladesh
				BSRM-28	Do
V	2	3	5	BSRM-30	Do
				BSRM-5	Bangladesh
				BSRM-13	Bangladesh
				BSRM-14	Do
VI	-	2	2	BSRM-18	India / Inde
				BSRM-19	Do
				BSRM-8	Bangladesh
VII	1	3	4	BSRM-12	Do
				BSRM-16	Bangladesh
				BSRM-21	China / Chine
VIII	-	3	3	BSRM-24	Bangladesh
				BSRM-29	Do
				BSRM-2	Bangladesh
				BSRM-7	Do
IX	-	2	2	BSRM-11	Do
				BSRM-9	Bangladesh
				BSRM-10	Do
X	-	2	2	BSRM-1	Bangladesh
				BSRM-3	Do
XI	3	4	7	BSRM-4	Bangladesh
				BSRM-20	India / Inde
				BSRM-22	China / Chine
				BSRM-23	India / Inde
				BSRM-31	Bangladesh
				BSRM-32	Do
				BSRM-35	Do

Table II. Average intra (diagonal) and inter-cluster distances in mulberry genotypes.**Tableau II. Distances moyennes intra (diagonales) et inter-groupes chez les génotypes de mûriers.**

Cluster	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
<i>Groupe</i>											
I	3.10	16.22	5.51	5.57	18.03	41.89	29.30	14.34	16.20	24.58	13.27
II		2.35	79.59	18.80	30.00	9.18	18.14	22.60	40.36	36.40	23.19
III			2.71	7.74	6.47	27.35	11.12	13.75	20.79	27.61	12.81
IV				2.32	11.34	41.17	21.62	11.72	14.10	30.08	20.47
V					5.06	21.23	16.43	15.06	32.96	32.02	35.83
VI						1.91	37.13	45.64	66.01	79.74	46.21
VII							4.85	28.07	30.91	32.53	16.70
VIII								5.99	22.15	38.78	25.57
IX									5.69	38.49	33.97
X										8.23	31.76
XI											23.44

Cluster IV exhibited maximum cluster mean for height of the longest shoot (1.2613 m) and stem girth (0.0129 m).

Maximum cluster mean for nodes / meter shoot length (39.94), leaf area (0.0030 m²) and leaf weight (0.0017 kg) and moisture percentage (76.87%) were found in cluster IX, XI and III respectively. On the other hand cluster X occupied the lowest rank for cluster mean both for total branch number (13.82), total branch height (7.45 m). Cluster IX showed minimum values for height of the longest shoot (0.6256 m), stem girth (0.0064 m), leaf area (0.0008 m²), leaf weight (0.0005 kg), total stem weight (0.1273 kg), moisture percentage (71.96%) and total leaf yield (0.2115 kg). Among all the characters the highest contribution towards genetic diversity was exhibited by moisture percentage (15.56) followed by total branch number (14.14), total stem weight (13.43), total leaf yield (12.63), leaf weight (11.52), nodes / meter shoot length (6.97), stem girth (6.97), leaf area (6.77) and height of the longest shoot (6.46). Total branch height showed minimum contribution to D² (5.56).

The magnitude of closeness of XI clusters could be identified by inter cluster distance. Genotypes separated by the largest inter-cluster distance if chosen for hybridization, may give high heterotic F₁s and broad spectrum of variability (Shamsuddin, 1985).

Table III. Cluster means of 10 leaf yield contributing characters as assessed for genetic divergence in mulberry genotypes.

Tableau III. Moyennes des groupes pour 10 caractères contribuant au rendement foliaire d'après l'évaluation de la divergence génétique chez les génotypes de murier.

Cluster	Total branch number / plant	Total branch height / plant (m)	Height of the longest shoot (m)	Nodes / meter shoot length	Stem girth (m)	Leaf area (m ²)	Leaf weight (kg)	Total stem weight / plant (kg)	Moisture percentage (%)	Total leaf yield / plant (kg)
Groupe	Nombre total de branches / plant	Hauteur totale de la branche / plant (m)	Hauteur de la pousse la plus longue (m)	Nœuds / mètre de pousse	Circonférence du tronc (m)	Surface foliaire (m ²)	Poids de la feuille (kg)	Poids total du tronc / plant (kg)	Pourcentage d'humidité (%)	Rendement foliaire total / plant (kg)
I	18.60	13.53	1.0063	29.44	0.0128	0.0027	0.0018	0.5613	75.45	0.8594
II	19.24	13.34	0.9828	29.50	0.0099	0.0019	0.0011	0.2974	73.66	0.5983
III	19.67	12.87	0.8505	32.66	0.0123	0.0022	0.0012	0.4637	76.87	0.8660
IV	24.79	21.53	1.2613	27.09	0.0129	0.0024	0.0014	0.7842	75.90	1.1128
V	24.96	21.69	1.2062	25.58	0.0115	0.0026	0.0013	0.8078	74.42	0.9898
VI	18.74	9.89	0.8278	36.42	0.0085	0.0012	0.0007	0.2095	72.36	0.3434
VII	17.67	8.53	0.7017	29.28	0.0108	0.0036	0.0021	0.3000	75.89	0.6858
VIII	44.20	31.38	1.0434	30.05	0.0109	0.0022	0.0012	0.9408	73.67	1.4802
IX	17.96	8.88	0.6256	39.94	0.0064	0.0008	0.0005	0.1273	71.96	0.2115
X	13.82	7.45	0.7704	27.63	0.0095	0.0027	0.0015	0.1925	73.50	0.3511
XI	19.85	12.27	0.9715	30.53	0.0119	0.0030	0.0017	0.4494	75.78	0.7802
Contribution to D ² Contribution envers D ²	14.14	5.56	6.46	6.97	6.97	6.77	11.52	13.43	15.56	12.63

On the basis of inter-cluster distance it is suggested that crossing among the genotypes between the cluster VI & X, II & III, VI & IX, VI & VIII, VI & XI, I & VI, II & IX, VI & IV, IX & X, VIII & X, II & X and V & XI would be more useful in creating maximum genetic variability and provide an ample opportunity to obtain leaf yield superior recombinants.

REFERENCES

- CHAWDHURY M. A. Z., MIA M. F. U., AHMED A. & ISLAM M. S. (1999) Character association and genetic diversity in groundnut. Bangladesh J. Agric. Res. 24(1): 73-82.
- DAS B. C. & KRISHNASWAMI S. (1965) Some observation on inter specific hybridization in mulberry. Indian J. Seric. 4: 1-8.
- DASGUPTA T & DAS P. K. (1984) Genetic divergence in wheat. Egyptian J. Genet. Cytol. 13(1): 56-60.
- GOLAKIYA P. R. & MAKNE V. G. (1992) D² analysis in Virginia runner groundnut genotypes. Indian J. Genet. 32(3): 252-256.
- JOSHI A. B. & DHAWAN N. S. (1960) Genetic improvement in yield with reference to self fertilising crops. Indian J. Genet. 20: 101-113.
- MAHALANOBIS P. C. (1936) On generalised distance in statistic. Proc. Nat. Inst. India. 2: 44-55.
- MURTHY B. R. & ARUNACHALAM V. (1966) The nature of divergence in relation to breeding system in crop plants. Indian J. Genet. 26(4): 188-198.
- RAO C. R. (1952) Advanced statistical methods in Biometric Research. John Wiley and Sons. New York.
- RAJAN M. V. & SARKAR A. (1998) Genetic divergence in some Indian and exotic mulberry genotypes. Bull. Sericult. Res. 1998. 9: 25-29.
- RAM J. & PANWAR D. V. S. (1970) Inter specific divergence in rice. Indian J. Genet. 30: 1-10.
- SAINI H. C. & KAICKER U. S. (1987) Genetic diversity in opium poppy. Indian J. Genet. 47(3): 291-296.
- SARKAR A & FUJITA H. (1993) Japanese system of mulberry breeding: Crossing methodology. Indian Silk, August, 1993. P: 5-8.
- SHAMSUDDIN A. K. M. (1985) Genetic diversity in relation to heterosis and combining ability in spring wheat. Theor. Appl. Genet. 70 : 306-308.
- SHANMUGAM A. S. & SREE RENGASAMY S. R. (1982) Genetic variability for quantitative characters in green gram (*Vigna radiata*), WileZek., Mardraj Agric. J. 69 : 631-636.
- SINGH R. B. & GUPTA M. P. (1968) Multivariate analysis and divergence in upland cotton. Indian J. Genet. 28: 151-167.

DIVERGENCE GENETIQUE CHEZ CERTAINS GENOTYPES DE MURIER

M. S. RAHMAN*, M. A. BARI¹ & O. I. JOARDER²

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh

1. Professor, Institute of Biological Sciences, Rajshahi University, Bangladesh.

2. Professor, Department of Genetics & Breeding, Rajshahi University, Bangladesh.

La divergence génétique de 45 génotypes de mûriers a été étudiée en utilisant les statistiques D^2 de Mahalanobis. L'analyse révèle une diversité génétique significative entre les génotypes. D'après les valeurs D^2 , les génotypes étudiés ont été classés dans 11 groupes différents. Les groupes ne sont pas uniquement formés d'après la diversité géographique. On observe la distance intra groupe maximum et minimum respectivement dans le groupe XI (23,44) et le groupe VI (1,91). On observe la distance inter groupe la plus élevée entre le groupe VI et X (79,74) et la plus faible entre le groupe I et III (5,51). Le groupe VIII présente la moyenne la plus élevée pour la totalité des branches, la hauteur totale de la branche, le poids total du tronc et le rendement foliaire total / plant. Le groupe IX présente les valeurs minimum pour la hauteur de la pousse la plus longue, la circonférence du tronc, la surface foliaire, le poids de la feuille, le poids total du tronc, le pourcentage d'humidité et le rendement total en feuilles. On observe les valeurs minimum pour le nombre total de branches et la hauteur totale de la branche dans le groupe X. Le pourcentage d'humidité présente la contribution la plus élevée envers la diversité génétique suivi par le nombre total de branches / plant, le poids total du tronc, le rendement foliaire total et le poids total. On pourrait prendre en considération la valeur moyenne élevée pour les différents caractères et la distance inter groupe pour sélectionner les souches parentales dans les futurs programmes de lignage.

INTRODUCTION

Le succès de l'hybridation pour l'amélioration variétale dépend de la sélection des parents impliqués dans le croisement. Généralement, un croisement entre des parents génétiquement différents présente une plus grande hétérosis que celui entre des parents étroitement liés et on peut compter sur une plus grande variabilité dans la génération de ségrégation (Rao, 1952). La diversité génétique joue donc un rôle important dans le lignage des plantes pour n'importe quelle amélioration variétale. Les connaissances sur la divergence génétique du matériel génétique disponible sont essentielles pour identifier et sélectionner les différents génotypes avec plus de justesse en vue de réaliser un programme d'hybridation. Les statistiques D^2 proposées par Mahalanobis (1936) sont très utilisées pour quantifier le degré de divergence génétique dans une population. Cette technique apporte des informations sur l'amplitude de la diversification génétique aux niveaux intra ainsi qu'inter groupes.

Compte-tenu de la nature très hétérozygote du mûrier, la ségrégation a lieu dans les descendance F1 avec un grand éventail de variabilité qui rend la sélection possible dans la génération F1 (Das et Krishnawami, 1965 et Sarkar et Fujita, 1993). Comme le mûrier peut se multiplier de manière

* Auteur auquel adresser la correspondance : Dr Md Saidur Rahman, Research Officer, Bangladesh Sericulture and Training Institute, P. O. Ghoramara, Dist. Rajshahi, Bangladesh.

végétative, l'exploitation de la vigueur hybride ou hétérosis est prometteuse parce qu'une fois que l'on a obtenu un bon caractère, on peut le maintenir et le multiplier par des moyens végétatifs. Compte tenu de ces deux avantages du mûrier, il existe des perspectives pour améliorer la situation sur le plan variétal par l'hybridation. Dans ce but, les sélectionneurs du mûrier ont besoin de recueillir des informations sur la divergence génétique présente dans les matériaux génétiques disponibles. Le *Bangladesh Sericulture Research and Training Institute*, de Rajshahi maintient environ 55 génotypes de mûrier dans sa banque génétique. Mais jusqu'à présent, on n'a pas évalué ces génotypes pour estimer l'amplitude de la divergence génétique existante. Dans cette optique, nous avons essayé d'obtenir des informations sur la divergence génétique existante chez les génotypes afin de constituer des groupes en fonction de leur mérite en matière de diversification génétique.

MATERIELS ET METHODES

Dans cette étude, nous avons utilisé quarante cinq génotypes de mûrier d'origine à la fois exotique et indigène maintenus dans la banque génétique du *Bangladesh Sericulture Research and Training Institute* à Rajshahi. On cultive les plants avec un espacement entre les rangées et entre les plants de respectivement 152,50 cm et 120 cm. On procède aux pratiques culturales habituelles quand cela est nécessaire. On recueille les données quatre fois par an et cela pendant trois ans. Dans cette étude, on prend en compte dix caractères de rendement foliaire et leurs composantes, c'est à dire le nombre total de branches / plant, la hauteur totale de la branche / plant, la hauteur de la pousse la plus longue, les nœuds / mètre de pousse, la circonférence du tronc, la surface foliaire, le poids de la feuille, le poids total du tronc / plant, le pourcentage d'humidité et le rendement foliaire total. On calcule la diversité génétique en utilisant les statistiques D^2 d'après la proposition de Mahalanobis (1936). On procède au regroupement des génotypes en suivant la méthode suggérée par K. D. Tocher (Rao, 1952).

RESULTATS ET DISCUSSION

On calcule les valeurs D^2 de Mahalanobis de toutes les combinaisons possibles et sur la base de ces valeurs, on classe 45 génotypes de mûrier dans XI groupes distincts comme le montre le Tableau I. Le schéma de regroupement des génotypes montre clairement que les groupes ne sont pas exclusivement formés d'après la diversité géographique. Dans cette étude, il s'avère que certains génotypes d'origine différente entrent dans le même groupe tandis que des génotypes de la même zone géographique entrent dans des groupes différents. Le groupe I est le plus grand groupe composé de 12 génotypes provenant à la fois du Bangladesh et d'Inde. On rencontre la même situation pour le groupe II, III et V. Dans le groupe VII, sur quatre génotypes, 3 viennent du Bangladesh tandis qu'un autre (BSRM-21) vient de Chine. Le groupe XI est le deuxième groupe le plus grand aussi composé de génotypes d'origine géographique différente. Joshi et Dhawan (1960) et Ram et Panwar (1970) ont indiqué que la diversité génétique est généralement associée avec la diversité géographique. Mais Murthy et Arunachalam (1966) et Singh et Gupta (1968) ont observé que la diversité génétique n'est pas nécessairement directement liée à la distribution géographique. Dasgupta et Das (1984) ont rapporté des résultats similaires chez le blé, Saini et Kaicker (1987) chez la betterave à sucre et Golakiya et Makne (1992) chez l'arachide. Rajan et Sarkar (1998) ont aussi rapporté des résultats similaires chez le mûrier. Les groupes IV, VI, VIII, IX et X sont constitués de génotypes de la même zone géographique dont l'architecture est similaire. Shanmugam et Rengasamy (1982) et Chawdhury et coll., (1999) ont aussi rapporté un tel parallélisme. D'après les observations et la discussion ci-dessus, on pourrait en conclure que la diversité génétique n'est pas nécessairement liée à la diversité géographique et on devrait accorder plus d'importance à la diversité génétique pour sélectionner les parents dans les programmes de lignage.

La distance intra et inter groupe moyenne présentée dans le Tableau II révèle des distances intra et intergroupes importantes. On observe la distance intra-groupe maximum dans le groupe XI (23,44)

et minimum dans le groupe VI (1,91). On observe la distance inter-groupe la plus élevée entre le groupe VI et X (79,74) et la plus faible entre le groupe I et III (5,51).

Les moyennes des groupes pour les dix caractères de rendement foliaire et leurs composantes sont présentées dans le Tableau III avec la contribution de chaque caractère envers la diversité. Le groupe VIII présente la moyenne de groupe la plus élevée pour le nombre total de branches (44,20), la hauteur totale de branches (31,38 m), le poids total du tronc (0,9408 kg) et le rendement foliaire total / plant (1,4802 kg).

Le groupe IV présente la moyenne de groupe maximum pour la hauteur de la pousse la plus longue (1,2613 m) et la circonférence du tronc (0,0129 m).

On observe la moyenne de groupe maximum pour les nœuds / mètre de longueur de pousse (39,94), la surface foliaire (0,0030 m²) et le poids foliaire (0,0017 kg) et le pourcentage d'humidité (78,67 %) respectivement dans les groupes IX, X, XI et III. D'autre part, le groupe X occupe le classement le plus bas pour la moyenne de groupe à la fois pour le nombre total de branches (13,82) et la hauteur totale de la branche (7,45 m). Le groupe IX présente les valeurs minimales pour la hauteur de la pousse la plus longue (0,6256 m), la circonférence du tronc (0,0064 m), la surface foliaire (0,0008 m²), le poids foliaire (0,0005 kg), le poids de la feuille (0,0005 kg), le poids total du tronc (0,1273 kg), le pourcentage d'humidité (71,96 %) et le rendement foliaire total (0,2115 kg). Parmi tous les caractères, le pourcentage d'humidité (15,56) présente la contribution la plus élevée envers la diversité génétique, suivi par le nombre total de branches (14,14), le poids total du tronc (13,43), le rendement foliaire total (12,63), le poids foliaire (11,52), les nœuds / mètre de longueur de pousse (6,97), la circonférence du tronc (6,97), la surface foliaire (6,77) et la hauteur de la longueur de la pousse (6,46). La hauteur totale de la branche présente la contribution minimum envers D² (5,56).

On peut identifier l'étendue de la proximité des 11 groupes d'après la distance inter groupe. Si on choisit les génotypes séparés par la distance inter-groupe la plus grande pour une hybridation, ils pourraient donner une F₁S très hétérotique et un grand éventail de variabilité (Shamsuddin, 1985).

D'après la distance inter-groupe, on conseille de faire des croisements entre les génotypes des groupes VI et X, II et III, VI et IX, VI et VIII, VI et XI, I et VI, II et IX, VI et IV, IX et X, VIII et X, II et X et V et XI pour générer la variabilité génétique maximum et offrir de grandes possibilités d'obtenir des recombinants au rendement foliaire supérieur.

STUDIES ON BIVOLTINE COCOONS COOKING : PART I. INFLUENCE OF PERMEATION TREATMENTS IN COOKING PROCESS ON WATER ABSORPTION CHARACTERISTICS OF JAPANESE BIVOLTINE COCOONS

G. HARIRAJ^{1*}, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, Bangalore – 68, India.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japan – 394.

The Japanese bivoltine cocoons Kinshu × Showa race has been studied for the influence of permeation temperatures and duration after cooking treatment on water permeation inside the cocoon and shell. The study indicates that the Japanese bivoltine cocoons were found to be significantly influenced by high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature in pan system of cooking on water content in the cocoon and shell, absorption of water inside the cocoons and moisture absorption in the cocoon shell. It was interesting to note that, the water absorption in cocoon and moisture absorption in shell decreased at boiling temperatures, which may be attributed to the entry suction phenomenon. The study clearly indicates that, in pan system of cooking 90° C high permeation temperature and 60° C low permeation temperature is found to be more suitable for permeating more water into the cocoons thereby softening the sericin uniformly in different layers of the cocoon shell compared to single temperature treatment, thus facilitating better unwinding of cocoon filaments from the hot air dried Japanese bivoltine cocoons.

Keywords: Japanese bivoltine cocoons, retting, permeation, pan cooking, water absorption cooking, high permeation temperature and low permeation temperature.

INTRODUCTION

The process of cocoon cooking influences the water penetration into the inner layers of the cocoon shell. Permeation of water inside the cocoons leads to softening of the sericin layers and agglutination between the cocoon filaments cross over points (cocoon layer and sericin) to release the resistance in the cocoon layers, by using water and steam [Kinoshita (1997)]. Eminent scientists in Japan studied the influence of permeation temperatures on water absorption characteristics. Nakagawa (1932), and Ogihara (1933) studied the mechanism of water absorption into the cocoons during permeation treatment for Japanese bivoltine cocoons. The effect of pre-treatment of the cocoon shell and water diffusion in the shell layers has been studied [Shimazaki and Yamamoto (1962) and Kinoshita *et al.* (1982a, 1982b)]. Katsuno (1969, 1973) has studied the importance of pre-treatment process on water absorption and moisture content in the shell and inferred that they have a significant influence on yarn unravelling. In the present study, an attempt has been made to study the influence of high permeation temperature, high permeation temperature duration and low permeation temperature for standard retting, cooking and adjustment temperatures and duration based on the water absorption in cocoon and shell characteristics of Japanese bivoltine cocoons.

* Author to whom correspondence may be addressed.

MATERIALS AND METHODS

Raw material:

Commercially available bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) reared in Japan have been used for the study.

Drying conditions:

The cocoons were dried in batch type hot air drier, following the temperature pattern of 115° C – 100° C – 85° C – 70° C – 60° C for a period of 5 hours. The degree of drying achieved was 40(%).

Retting conditions:

The dried cocoons were taken in a cage and then retted at 50° C for 2 minutes in first pan cooking.

Permeation conditions:

The retted cocoons were immediately treated at high permeation temperature of 80° C, 90° C and 97° C for one minute and 2 minutes duration in second pan of cooking followed by treatment at low permeation temperature of 60°, 70° C and 80° C for one minute duration in third pan of pan system of cooking.

Cooking and adjustment conditions:

The permeated cocoons were transferred to the cooking pan wherein the cocoons are treated at 95° C for 2 minutes in order to cook the cocoons. After the cocoons were cooked, the cocoons were left in the same bath without steam supply for one minute to reduce the temperature from 95° to 93° C. Then a small quantity of water was added to the bath for one minute, to decrease the temperature from 93° to 90° C. The addition of water to the bath was increased gradually so that in a period of 4 minutes the temperature of water was reduced to 50° C. The cocoons were kept at the same temperature for one minute and then removed from the cooking bath for brushing. The total period of adjustment was thus 7 minutes and the cooking was carried out in a pan system of cooking.

Water used:

Tap water having 6.7 pH, 66 ppm hardness, 32 ppm acidity and 46 ppm M-alkalinity was used for the study.

Experimental procedure:

The cocoons taken for water permeation test were initially measured for their dimensions using a specially designed vernier scale made of wood as reported by Nakayama (1974). It was assumed that the cocoons are ellipsoid in shape and accordingly the length and width of the cocoons were measured. The volume of the cocoons was estimated using the formulae given by Nakayama (1974).

$$\begin{aligned}\text{Volume of the cocoon} &= \text{Volume of a cylinder} + \text{Volume of a sphere} \\ &= \pi (b/2)^2 \times (a - b) + 4/3 (b/2)^3 \times \pi \\ &= \pi b^2(3a - b) / 12\end{aligned}$$

Where,

a = Length of the cocoon

b = Width of the cocoon

Fifty cocoons per replication were taken for the experiment. The cocoons were initially weighed to observe the dry cocoon weight (W1) and then the cocoons were cooked at various temperature profiles using a cage. The cooked cocoons were immediately weighed to observe the increased weight (W2). After weighing, the cocoons were cut open to remove the pupa and water inside the cocoons and the cocoon shells were weighed (W3). The shells were then dried, conditioned and weighed (W4).

Later, the water content inside the cocoons ($W2 - W1$) and the water content in the cocoon shell ($W3 - W4$) were calculated. Degree of absorption of water inside the cocoons and percentage of moisture absorption in the cocoon shell were calculated using the following formulae [Koike (1964)]:

Degree of absorption of water inside the cocoon = $W2 / W1$

$W1$ = Weight of dry cocoon before treatment

$W2$ = Weight of cooked cocoon after treatment

Percentage of moisture absorption in the cocoon shell = $\{(W3 - W4) / W4\} \times 100$

$W3$ = Weight of cooked cocoon shell

$W4$ = Weight of dry cocoon shell

Cooked cocoon density = $\{W2/V\} \times 100$

$W2$ = Weight of cooked cocoon

V = Volume of the cocoon.

The results thus obtained were averaged to five values of ten cocoons each and the experiment was repeated with three batches of cocoons. The results thus obtained were analysed using SPSS statistical package.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance results of water absorption characteristics after permeation treatments of Japanese bivoltine cocoons are presented in Table I. The mean results of the water absorption characteristics of the Japanese bivoltine cocoons treated with different high permeation temperatures and durations are given in Table II and IV. The mean water absorption characteristic results of the cocoons treated with different low permeation temperatures are given in Table III.

a. Analysis of variance results of permeation treatments followed by cooking treatments on water absorption characteristics:

The analysis of variance results given in Table I showed that a significant difference exists among high permeation duration and low permeation temperature on water content in cocoon, water content in shell, water absorption in cocoon, moisture absorption in shell and cooked cocoon density characteristics. The high permeation temperature was found to influence water content in cocoon and cooked cocoon density. From the results, it could be inferred that the high permeation temperature, low permeation temperature and high permeation duration are significant factors, which determine the water absorption in Japanese bivoltine cocoons. The interactions between permeation temperatures and duration are also found to have a significant effect with some of the water absorption characteristics.

b. Effect of water content in cocoon and shell:

The ANOVA Table I indicates that high permeation temperature, low permeation temperature and high permeation duration are significantly influenced by water content in the cocoon at 10% level, 1% level and 5% level respectively, whereas low permeation temperature and high permeation duration are significant factors which determine water content in shell at 1% level and 5% level respectively. The contribution factor of high permeation temperature, low permeation temperature and high permeation duration on water content in the cocoon are 3.21%, 12.47%, 3.31% and the contribution factor of low permeation temperature and high permeation duration on water content in shell are 12.94%, 3.32% respectively. This is because the Japanese bivoltine cocoons have compact shell structure and hence absorb more water inside the cocoon and shell in the various permeation temperatures selected in the study.

Table I. Analysis of variance result of influence of permeation treatments on water absorption characteristics of Japanese bivoltine cocoons.

Tableau I. Résultat de l'analyse de variance concernant l'influence des traitements d'imprégnation sur les caractéristiques d'absorption de l'eau des cocons bivoltins japonais.

Source	Mean sum of squares					
	Degree of freedom	Water content in cocoon (g)	Water content in shell (g)	Water absorption in cocoon	Moisture absorption in shell (%)	Cooked cocoon density (%)
	Degrés de liberté	Teneur en eau du cocon (g)	Teneur en eau de la coque (g)	Absorption de l'eau dans le cocon	Absorption de l'humidité dans la coque (%)	Densité du cocon cuit (%)
High permeation temperature / <i>Température d'imprégnation élevée</i>	2	0.410	8.378×10^{-4}	0.162	393.74	5.561**
High permeation duration / <i>Longue durée d'imprégnation</i>	1	0.644*	3.27×10^{-2} *	0.965**	1679.04**	31.286**
Low permeation temperature / <i>Température d'imprégnation basse</i>	2	1.045**	5.485×10^{-2} **	0.630**	947.718*	9.703**
High permeation temperature × high permeation duration <i>Température d'imprégnation élevée × longue durée d'imprégnation</i>	2	0.136	5.183×10^{-2} **	0.164	2139.256**	4.364*
High permeation duration × Low permeation temperature <i>Longue durée d'imprégnation × Faible température d'imprégnation</i>	2	0.595*	3.43×10^{-2} *	0.143	450.907	4.388*
High permeation temperature × low permeation temperature <i>Température d'imprégnation élevée × faible température d'imprégnation</i>	4	0.129	3.147×10^{-3}	0.300*	90.535	5.033**
Interaction effect / <i>Effet d'interaction</i>	4	0.337	9.943×10^{-3}	0.230	555.36*	0.822
Error / <i>Ecart</i>	36	0.190	9.306×10^{-3}	0.119	257.882	0.828

*- Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*. ** Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*.

From the results given in Table II, it could be observed that as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C, the water content in the cocoon and shell also increased from 8.330g to 8.605g, whereas at boiling temperature a slight decrease in water content in cocoons is observed i. e., 8.359g. The water content in the shell is increased from 1.505g to 1.515g, as the high permeation temperature was raised from 80° C to 90° C. At boiling temperature a slight decrease in water content in shell is observed i. e., 1.502g. The C. D. values at 5% level indicate no significant difference between the high permeation temperature on water content in cocoon and in shell, which is attributed to the uniform softening of sericin in cocoon layers due to proper cooking treatments. The results suggest that high permeation temperature of 90° C is suitable for Japanese bivoltine cocoons based on water content in cocoon and shell.

Table II. Mean results of water absorption characteristics with reference to high permeation temperature during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau II. Résultats moyens concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau avec une température d'imprégnation élevée pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins japonais.

High permeation Temperature	Water content in cocoon	Water content in shell (g)	Water absorption in cocoon	Moisture absorption in shell (%)	Cooked cocoon density (%)
<i>Température d'imprégnation élevée</i>	<i>Teneur en eau du cocon</i>	<i>Teneur en eau de la coque</i>	<i>Absorption de l'eau dans le cocon</i>	<i>Absorption de l'humidité dans la coque (%)</i>	<i>Densité du cocon cuit (%)</i>
80° C	8.33 (0.577)	1.505 (0.099)	10.296 (0.329)	303.95 (15.66)	96.08 (1.78)
90° C	8.605 (0.503)	1.515 (0.145)	10.43 (0.339)	313.13 (22.48)	97.19 (1.28)
97° C	8.359 (0.414)	1.502 (0.103)	10.246 (0.395)	310.07 (21.20)	96.56 (1.28)
C. D. at 5%	0.49	0.11	0.39	18.17	1.03

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs de l'écart type.*

The results given in Table III indicate that low permeation temperature has a significant influence on water content in the cocoons and shell. It is interesting to note that the increase in low permeation temperature decreases the water content in both the cocoons and the shell. The water content was decreased to the extent of 5.16% in the cocoons and 6.72% in the cocoon shell. This is attributed to the fact that as the temperature difference between high permeation temperature and low permeation temperature increases the pressure difference results in more water permeation inside the cocoons. The results indicate that at 60° C low permeation temperature more water permeation is observed.

Table III. Mean results of water absorption characteristics with reference to low permeation temperature during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.*Tableau III. Résultats moyens concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau avec la faible température d'imprégnation pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins japonais.*

Low permeation temperature	Water content in cocoon (g)	Water content in shell (g)	Water absorption in cocoon	Moisture absorption in shell (%)	Cooked cocoon density (%)
<i>Température d'imprégnation basse</i>	<i>Teneur en eau du cocon (g)</i>	<i>Teneur en eau de la coque (g)</i>	<i>Absorption de l'eau dans la coque (%)</i>	<i>Absorption de l'humidité dans la coque (%)</i>	<i>Densité du cocon cuit (%)</i>
60° C	8.706 (0.616)	1.548 (0.113)	10.524 (0.437)	315.6 (22.29)	97.08 (0.605)
70° C	8.33 (0.353)	1.529 (0.125)	10.292 (0.360)	310.3 (20.37)	96.98 (1.63)
80° C	8.257 (0.423)	1.444 (0.0798)	10.15 (0.409)	301.25 (14.95)	95.76 (1.91)
C. D. at 5%	0.49	0.11	0.39	18.17	1.03

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs de l'écart type.*

Table IV indicates that as the high permeation duration was increased from 1 minute to 2 minutes, the water content in the cocoon and shell increased by 2.63% in cocoon and 3.37% in shell respectively. However, the C. D. values at 5% indicate no significant difference in water content in cocoon and water content in the shell for both low permeation temperature and high permeation duration. This is attributed to proper water permeation from inside to outside the cocoon shell during complete cooking treatment effectively.

c. Effect of water absorption inside the cocoon:

The ANOVA Table I indicates that, low permeation temperature and high permeation duration significantly influences, water absorption in the cocoon at 1% level whereas cooking duration did not show a significant effect. The contribution factor of low permeation temperature and high permeation duration on water absorption inside the cocoon are 10.69% and 8.85% respectively.

The low permeation temperature showed a decrease in water absorption inside the cocoon from 10.52 to 10.15 times the dry weight of the cocoons, as the low permeation temperature increases from 60° C to 80° C, which is because at lower temperature difference, pressure is less leading to less penetration of water into the cocoons (Table III). The C. D. values at 5% indicate no significant difference among the low permeation temperature on water absorption characteristics.

The Table IV indicates that the high permeation duration also absorbs 0.27 times more water with 2 minutes treatment compared to 1 minute treatment. The reason attributed to this is due to more compactness of Japanese race cocoons, higher high permeation duration softens the sericin effectively

during cooking treatment. However, C. D. values at 5% level did not show a significant difference between the high permeation durations.

d. Effect of moisture absorption in the cocoon shell:

Similar to water absorption in cocoons, the low permeation temperature and high permeation duration also showed a significant influence on moisture absorption in cocoon shell. The ANOVA Table I indicates that low permeation temperature has a significant influence on moisture absorption in the cocoon shell at 5% level, whereas high permeation duration at 1% level. The contribution factor of low permeation temperature and high permeation duration on moisture absorption in the cocoon shell are 6.51% and 6.71% respectively.

The results given in Table III showed that, as the low permeation temperature increased from 60° C to 80° C, the moisture absorption in the shell increased to the extent of 4.44%, which is attributed to pressure difference created by the high permeation temperature and low permeation temperature. The C. D. values at 5% indicate no significant difference among the low permeation temperature between 80° C and 60° C, on moisture absorption characteristics.

Due to the thick shell thickness of Japanese bivoltine cocoons the water penetration inside the cocoons during high temperature for permeation is more. This water will be removed during cooking either fully or partially depending on the softening of sericin level. If the high permeation temperature is very high then the sericin will be over softened and the air inside the cocoons cannot escape during steam cooking resulting in less water penetration during adjustment part. It is worth mentioning here that the following factors namely water penetrated during retting, sericin softening level and temperature in cooking play a vital role in deciding of the water penetration in the cocoons.

Table IV. Mean results of water absorption characteristics with reference to high permeation duration during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau IV. Résultats moyens concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau avec une longue durée d'imprégnation pendant le processus de cuisson chez les cocons japonais bivoltins.

High permeation duration	Water content in cocoon (g)	Water content in shell (g)	Water absorption in cocoon	Moisture absorption in shell (%)	Cooked cocoon density (%)
<i>Longue durée d'imprégnation</i>	<i>Teneur en eau du cocon (g)</i>	<i>Teneur en eau de la coque (g)</i>	<i>Absorption de l'eau dans le cocon</i>	<i>Absorption de l'humidité dans la coque (%)</i>	<i>Densité du cocon cuit (%)</i>
1 minute	8.322 (0.495)	1.482 (0.112)	10.46 (0.334)	303.5 (22.27)	95.85 (1.25)
2 minutes	8.541 (0.507)	1.532 (0.116)	10.19 (0.468)	314.63 (15.95)	97.37 (1.52)
C.D at 5%	0.70	0.15	0.55	25.70	1.46

Values in the parenthesis are standard deviation values. / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs de l'écart type.*

Table IV, indicates that the high permeation duration absorbs only 3.66 % more moisture with 2 minutes treatment compared to 1 minute treatment, which was not significantly more as indicated by the C. D. values at 5% level. Thus it is observed that, 2 minutes duration of high permeation temperature treatment absorb required amount of moisture in the cocoon shell so that suitable softening of sericin takes place for effective unwinding of filaments from the cocoons. The study indicates that permeation treatments associated with cooking and adjustment treatment are required to achieve required moisture absorption in the shell of the cocoons, thereby producing more silk and less waste. The results further indicate that at 90° C high permeation temperature and 2 minutes high permeation duration, followed by 95° C cooking and 95-50° C adjustment temperature profile, it enables an uniform softening of sericin, thus facilitating more yield and better quality raw silk.

e. Effect of cooked cocoon density:

Similar to water content in cocoon, high permeation temperatures and duration and low permeation temperature have also shown a significant influence with the cooked cocoon density. The ANOVA Table I indicates that high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature have a significant influence on cooked cocoon density at 1% level. The contribution factor of high permeation temperature, duration and low permeation temperature on cooked cocoon density are 7.14%, 22.98% and 13.39% respectively.

From the results given in Table II it could be observed that as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C, the cooked cocoon density was increased by 1.16% whereas at boiling temperature a slight decrease in cooked cocoon density was observed i.e., 0.65% which is attributed to entry suction phenomenon. The C. D. values at 5% level show a significant difference between the high permeation temperatures of 80° and 90° C on water permeation with respect to volume of the cocoons. Thus, it may be observed that high permeation temperature of 90° to 97° C is suitable for Japanese bivoltine cocoons used for the study.

The low permeation temperature showed an increase in cooked cocoon density by 1.36% as the low permeation temperature decreased from 80° C to 60° C, which is attributed to pressure difference created by the high permeation temperature and low permeation temperature (Table III). The C. D. values at 5% showed a significant difference among the low permeation temperature of 60° C and 80° C on cooked cocoon density. Thus it may be inferred that 60° C low permeation temperature is quite suitable for Japanese bivoltine cocoons used for the study.

Table IV indicates that the high permeation duration also increased the cooked cocoon density by 1.58% with a 2 minutes treatment. The C. D. values at 5% showed no significant difference between 1 and 2 minutes treatment, which is a similar trend as indicated in water absorption characteristics.

CONCLUSION

Based on the above study, it is inferred that, at the high permeation temperature and duration and low permeation temperature there is a significant influence on the water content in cocoon and shell, on the water absorption inside the cocoon (cooking degree), on the moisture absorption in shell and on cooked cocoon density. The behaviour of water absorption characteristics during complete cooking process revealed that, the high permeation temperature of 90° C, absorbs maximum water inside the cocoons and shell. The boiling temperature absorbed less water in cocoon and shell, due to entry suction phenomenon. The low permeation temperature is found to absorb required water with the temperature of 60° C. The 2 minutes high permeation duration is found to absorb more water than 1 minute duration in the used Japanese bivoltine cocoons. The study revealed that permeation treatments associated with standard retting, cooking and adjustment treatments improve the water absorption characteristics and result in uniform water absorption in all the cocoons and hence these Japanese bivoltine cocoons perform better in reeling and improve productivity and raw silk quality.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors express their gratitude to Dr T. Nishide, Director, National Institute of Sericulture and Entomological Science, Okaya, Japan, for his guidance in conducting the study. The thanks are due to staff of NISES, Okaya for their co-operation while conducting the study.

REFERENCES

- KATSUNO M. (1969) The effect of pre-treatment temperature and time before cooking on cocoon shell moisture and its variability. *J. Seri. Sci. Institute*, 17: 20-26.
- KATSUNO M. (1973) The cocoon shell water absorption based on low pressure permeation treatment, *J. Seri. Sci. Institute*, 22: 51-60.
- KINOSHITA H. (1997) Development of optimum control method of cocoon cooking by the application of expert system, *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, 19(10): 1-119.
- KINOSHITA H., KUSAMA T., KOEKE R. (1982a) Studies related to cocoon pre-treatment before cooking, *Filature and silk conference report*, 32: 10-13.
- KINOSHITA H., KUSAMA T., KOEKE R. (1982b) Effectiveness of pre-treatment on steam cooking with respect to moisture content. *Bull. Nagano Pref. Textile Experiment Station report*, 56: 32-35.
- KOIKE R. (1964) In regard to cocoon shell water quantity variations in the pre-treatment before cooking I. Retting temperature, retting time and temperature gradient relations, *Filature and Silk Conference report*, 14: 20-26.
- NAKAGAWA S. (1932) Cocoon cooking method with low temperature boiling conditions after steam permeation. *J. Seri. Ci. Jpn*, 14(7): 43-56.
- NAKAYAMA N. (1974) Relationship between size of the cocoon and water permeation inside the cocoon, *Bull. Nagano Pref. Ext. Res. Institute*, 8: 54-57.
- OGIHARA K. (1933) Comments on cocoon cooking: *Cooking theory book*. Bunmeido, Tokyo, 348-354.
- SHIMAZAKI A., YAMAMOTO A. (1962) Study on pre-treatment of cocoon cooking II. Soaking treatment and cocoon shell permeability, *J. Silk Sci. Tech. Japan*, 12: 4-7.

ETUDES SUR LA CUISSON DES COCONS BIVOLTINS : PREMIERE PARTIE. INFLUENCE DES TRAITEMENTS D'IMPRÉGNATION DANS LE PROCESSUS DE CUISSON SUR LES CARACTERISTIQUES D'ABSORPTION DE L'EAU DES COCONS BIVOLTINS JAPONAIS

G. HARIRAJ^{1*}, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, Bangalore – 68, Inde.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japon – 394.

On a étudié l'influence des températures et de la durée d'imprégnation après le traitement de cuisson sur la pénétration de l'eau à l'intérieur du cocon et de la coque chez les cocons bivoltins japonais de la race Kinshu × Showa. L'étude indique qu'avec le système de cuisson à la bassine, une température d'imprégnation élevée, une longue durée d'imprégnation puis une faible température d'imprégnation ont une influence importante sur la teneur en eau dans le cocon et dans la coque, sur l'absorption de l'eau à l'intérieur des cocons et sur l'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse chez les cocons bivoltins Japonais. Il est intéressant de noter que l'absorption de l'eau dans le cocon et l'absorption de l'humidité dans la coque diminuent avec des températures d'ébullition, ce qui pourrait être attribué au phénomène de succion à l'entrée. L'étude indique clairement qu'avec le système de cuisson à la bassine, une température d'imprégnation élevée de 90° C suivie d'une faible température d'imprégnation de 60° C s'avèrent plus adaptées pour faire pénétrer plus d'eau dans les cocons et ramollir de ce fait la sérécine de manière uniforme dans les différentes couches de la coque soyeuse par comparaison au traitement de température unique, ce qui entraîne un meilleur dévidage des filaments de cocon chez les cocons bivoltins Japonais séchés à l'air chaud.

INTRODUCTION

Le processus de cuisson des cocons influence la pénétration de l'eau dans les couches internes de la coque soyeuse. La pénétration de l'eau dans les cocons entraîne le ramollissement des couches de sérécine et l'agglutination aux points de croisement des filaments du cocon (couche du cocon et sérécine) pour libérer la résistance dans les couches du cocon, en utilisant l'eau et la vapeur (Kinoshita (1997). Des chercheurs éminents au Japon ont étudié l'influence des températures d'imprégnation sur les caractéristiques d'absorption de l'eau. Nakagawa (1932) et Ogihara (1933) ont étudié le mécanisme d'absorption de l'eau dans les cocons pendant le traitement d'imprégnation des cocons bivoltins Japonais. L'effet du pré-traitement de la coque soyeuse et de la diffusion de l'eau dans les couches de la coque a également été étudié (Shimazaki et Yamamoto (1962) et Kinoshita et coll., (1982a, 1982b). Katsuno (1969, 1973) a étudié l'importance du processus de pré-traitement sur l'absorption de l'eau et sur la teneur en humidité de la coque et en a déduit qu'ils ont une influence significative sur le dévidage du fil. Dans cette étude, nous avons essayé d'étudier l'influence de la température d'imprégnation élevée, de la durée de la température d'imprégnation élevée et suivie d'une faible température d'imprégnation pour des températures de rouissage, de cuisson, d'ajustement

* Auteur auquel adresser la correspondance.

et d'une durée standards basée sur l'absorption de l'eau du cocon et les caractéristiques de la coque chez les cocons bivoltins Japonais.

MATERIELS ET METHODES

Matière première :

Dans cette étude on utilise des cocons bivoltins disponibles commercialement (race Kinshu × Showa) élevés au Japon.

Conditions de séchage :

On sèche les cocons dans un séchoir à air chaud en lots, en suivant un schéma de température de 115° C – 100° C – 85° C – 70° C – 60° C pendant une période de 5 heures. On atteint un degré de séchage de 40 %

Conditions de rouissage :

On prend les cocons séchés dans une cage et puis on les rouit à 50° C pendant 2 minutes dans la première bassine de cuisson.

Conditions d'imprégnation :

On traite immédiatement les cocons rouis à une température d'imprégnation élevée de 80° C, 90° C et 97° C pendant une durée d'une minute et de 2 minutes dans la deuxième bassine de cuisson suivi par un traitement à une faible température d'imprégnation de 60°, 70° et 80° C pendant une durée d'une minute dans la troisième bassine du système de cuisson à la bassine.

Conditions de cuisson et d'ajustement :

On transfère les cocons imprégnés dans la bassine de cuisson où les cocons sont traités à 95° C pendant 2 minutes pour cuire les cocons. Après avoir cuit les cocons, on laisse les cocons dans le même bain sans aucun apport de vapeur pendant une minute pour diminuer la température de 95° C à 93° C. Puis on ajoute une petite quantité d'eau au bain pendant une minute pour baisser la température de 93° à 90° C. On augmente progressivement l'ajout d'eau au bain de sorte qu'en une période de 4 minutes la température de l'eau diminue à 50° C. On conserve les cocons à la même température pendant une minute puis on les retire du bain de cuisson pour les purger. La période totale d'ajustement dure ainsi 7 minutes et la cuisson est effectuée dans un système de cuisson à la bassine.

Eau utilisée :

On utilise de l'eau du robinet avec un pH de 6,7, une dureté de 66 ppm, une acidité de 32 ppm et une alcalinité-M de 46 ppm.

Procédure expérimentale :

On mesure au départ les dimensions des cocons pris pour le test d'imprégnation de l'eau en utilisant une échelle vernier spécialement conçue, en bois, d'après les descriptions de Nakayama (1974). On présume que les cocons sont de forme ellipsoïdale et on mesure en conséquence la longueur et la largeur des cocons. On estime le volume des cocons en utilisant la formule donnée par Nakayama (1974).

$$\begin{aligned}\text{Volume du cocon} &= \text{Volume d'un cylindre} + \text{Volume d'une sphère} \\ &= \pi (b/2)^2 \times (a - b) + 4/3 (b/2)^3 \times \pi \\ &= \pi = b^2(3a - b) / 12\end{aligned}$$

Où

$$\begin{aligned}a &= \text{longueur du cocon} \\ b &= \text{largeur du cocon}\end{aligned}$$

On prend cinquante cocons par répétition pour l'expérience. On pèse d'abord les cocons pour noter le poids sec du cocon ($W1$) puis on cuit les cocons à des profils de températures variés en utilisant une cage. On pèse immédiatement les cocons cuits pour observer l'augmentation de poids ($W2$). Après la pesée, on ouvre les cocons en les coupant pour enlever les nymphes et l'eau à l'intérieur des cocons et on pèse les coques soyeuses ($W3$). Puis on sèche, on conditionne et on pèse les coques ($W4$).

Par la suite, on calcule la teneur en eau à l'intérieur des cocons ($W2 - W1$) et la teneur en eau dans la coque soyeuse ($W3 - W4$). On calcule le degré d'absorption de l'eau à l'intérieur des cocons et le pourcentage d'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse en utilisant la formule suivante [Koike (1964)] :

Degré d'absorption de l'eau à l'intérieur du cocon = $W2 / W1$

$W1$ = Poids du cocon sec avant le traitement

$W2$ = Poids du cocon cuit après le traitement

Pourcentage d'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse = $\{(W3 - W4) / W4\} \times 100$

$W3$ = Poids de la coque soyeuse cuite

$W4$ = Poids de la coque soyeuse sèche

Densité du cocon cuit = $\{W2/V\} \times 100$

$W2$ = Poids du cocon cuit

V = Volume du cocon

On fait une moyenne de cinq valeurs à partir des résultats obtenus représentant chacune dix cocons et on répète l'expérience avec trois lots de cocons. On analyse les résultats obtenus ainsi en utilisant le système statistique SPSS.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse de variance concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau après les traitements d'imprégnation chez les cocons bivoltins Japonais sont présentés dans le Tableau I. Les résultats moyens concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau des cocons bivoltins Japonais traités avec différentes températures et durées d'imprégnation élevées sont présentés dans les Tableaux II et IV. Les résultats concernant les caractéristiques d'absorption de l'eau des cocons traités avec différentes températures d'imprégnation faibles sont présentés dans le Tableau III.

a. Résultats de l'analyse de variance concernant les traitements d'imprégnation suivis par les traitements de cuisson sur les caractéristiques d'absorption de l'eau :

Les résultats de l'analyse de variance présentés dans le Tableau I montrent qu'il existe une différence significative entre la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation sur la teneur en eau du cocon, la teneur en eau de la coque, l'absorption de l'eau dans le cocon, l'absorption de l'humidité dans la coque et les caractéristiques de densité du cocon cuit. La température d'imprégnation élevée influence la teneur en eau dans le cocon et la densité du cocon cuit. D'après les résultats, on peut en déduire que la température d'imprégnation élevée, la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation sont des facteurs importants, qui déterminent l'absorption de l'eau chez les cocons bivoltins Japonais. Les interactions entre les températures et la durée d'imprégnation ont aussi un effet significatif sur certaines des caractéristiques d'absorption de l'eau.

b. Effet de la teneur en eau dans le cocon et la coque :

Le Tableau ANOVA I indique que la température d'imprégnation élevée, la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation influencent de manière significative la teneur en eau dans le cocon au seuil de respectivement 10 %, de 1 % et de 5 % tandis que la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation sont des facteurs significatifs qui déterminent la teneur en eau de la coque au seuil de respectivement 1 et 5 %.

Le facteur de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la faible température d'imprégnation et de la longue durée d'imprégnation sur la teneur en eau dans le cocon sont de 3,21 %, 12,47 %, 3,31 % et le facteur de contribution de la faible température d'imprégnation et de la durée d'imprégnation élevée sur la teneur en eau dans la coque sont de respectivement 12,94 % et 3,32 %. C'est le cas parce que les cocons bivoltins Japonais ont une coque de structure compacte et absorbent donc plus d'eau à l'intérieur du cocon et de la coque avec les températures d'imprégnation variées sélectionnées dans l'étude.

D'après les résultats apparaissant dans le Tableau II, on peut observer qu'alors que la température d'imprégnation élevée passe de 80° C à 90° C, la teneur en eau dans le cocon et dans la coque augmente aussi de 8,330 g à 8,605 g, tandis qu'avec la température d'ébullition on observe une légère diminution de la teneur en eau dans les cocons, c'est à dire 8,359 g. La teneur en eau dans la coque augmente de 1,505 g à 1,515 g, lorsque la température d'imprégnation élevée passe de 80° C à 90° C. Avec la température d'ébullition, on observe une légère diminution de la teneur en eau dans la coque, c'est à dire 1,502 g. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % n'indiquent pas de différence significative entre les températures d'imprégnation élevée sur la teneur en eau dans le cocon et la coque, ce qui est attribué à l'amollissement uniforme de la séricine dans les couches du cocon avec les traitements de cuisson adaptés. Les résultats suggèrent que la température d'imprégnation élevée de 90° C convient aux cocons bivoltins japonais d'après la teneur en eau dans le cocon et dans la coque.

Les résultats apparaissant dans le Tableau III indiquent que la faible température d'imprégnation a une influence importante sur la teneur en eau dans les cocons et dans la coque. Il est intéressant de noter que l'augmentation de la faible température d'imprégnation diminue la teneur en eau à la fois dans les cocons et dans la coque. La teneur en eau diminue jusqu'à 5,16 % dans les cocons et jusqu'à 6,72 % dans la coque soyeuse. On attribue cela au fait que lorsque la différence de température entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation augmente, la différence de pression entraîne plus de pénétration de l'eau à l'intérieur des cocons. Les résultats indiquent qu'avec une faible température d'imprégnation de 60° C on observe plus de pénétration de l'eau.

Le Tableau IV montre que lorsque la longue durée d'imprégnation passe de 1 à 2 minutes, la teneur en eau du cocon et de la coque augmente respectivement de 2,63 % dans le cocon et de 3,37 % dans la coque. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il n'y a pas de différence significative au seuil de 5 % de la teneur en eau du cocon et de la teneur en eau de la coque à la fois avec la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation. On attribue cela à la pénétration correcte de l'eau de l'intérieur à l'extérieur de la coque soyeuse pendant le traitement de cuisson complet.

c. Effet de l'absorption de l'eau à l'intérieur du cocon :

Le Tableau ANOVA I indique que, la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation influencent considérablement l'absorption de l'eau dans le cocon au seuil de 1 % tandis que la durée de cuisson n'a pas d'effet significatif. Les facteurs de contribution de la faible température d'imprégnation et de la longue la durée d'imprégnation sur l'absorption de l'eau à l'intérieur du cocon sont respectivement de 10,69 % et de 8,85 %.

La faible température d'imprégnation entraîne une diminution de l'absorption de l'eau à l'intérieur du cocon de 10,52 à 10,15 fois le poids sec des cocons lorsque la faible température d'imprégnation augmente de 60° C à 80° C, ce qui est dû au fait qu'avec une différence de température plus faible, la pression est inférieure, ce qui entraîne moins de pénétration de l'eau dans les cocons

(Tableau III). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il n'y a pas de différence importante concernant les faibles températures d'imprégnation sur les caractéristiques d'absorption de l'eau.

Le Tableau IV indique que la longue durée d'imprégnation absorbe aussi 0,27 fois plus d'eau avec le traitement de 2 minutes qu'avec le traitement d'une minute. On attribue cela au fait que comme les cocons de race japonaise sont plus compacts, la plus longue durée d'imprégnation ramollit donc efficacement la sérécine pendant le traitement de cuisson. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % ne montrent pas de différence importante entre les longues durées d'imprégnation.

d. Effet de l'absorption de l'humidité à l'intérieur de la coque soyeuse :

Comme pour l'absorption de l'eau dans les cocons, la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation ont aussi une influence importante sur l'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse. Le Tableau ANOVA I indique que la faible température d'imprégnation a une influence importante sur l'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse au seuil de 5 % tandis que pour la durée d'imprégnation c'est au seuil de 1 %. Les facteurs de contribution de la faible température d'imprégnation et de la longue durée d'imprégnation sur l'absorption de l'humidité dans la coque soyeuse sont de respectivement 6,51 % et 6,71 %.

Les résultats présentés dans le Tableau III montrent que, lorsque la faible température d'imprégnation augmente de 60° C à 80° C, l'absorption de l'humidité dans la coque augmente de 4,44 %, ce qui est attribué à la différence de pression créée par la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il n'y a pas d'effet important entre la faible température d'imprégnation de 80° C et de 60° C, sur les caractéristiques d'absorption de l'humidité.

Compte tenu de l'épaisseur importante des cocons bivoltins Japonais, il y a une pénétration plus importante de l'eau à l'intérieur des cocons avec la température d'imprégnation élevée. Cette eau se retire lors de la cuisson soit complètement soit partiellement en fonction du niveau d'amollissement de la sérécine. Si la température d'imprégnation élevée est très importante, la sérécine ramollit trop et l'air à l'intérieur des cocons ne peut pas s'échapper pendant la cuisson à la vapeur, ce qui entraîne moins de pénétration de l'eau pendant l'ajustement. Les facteurs suivants à savoir l'eau qui pénètre pendant le rouissage, le niveau d'amollissement de la sérécine et la température pendant la cuisson jouent un rôle vital pour décider de la pénétration de l'eau dans les cocons.

Le Tableau IV indique que la longue durée d'imprégnation n'absorbe que 3,66 % plus d'humidité avec un traitement de deux minutes que le traitement d'1 minute, ce qui n'est pas significativement différent selon les valeurs de D. C. au seuil de 5 %. On observe donc qu'une durée de deux minutes à la température d'imprégnation élevée absorbe la quantité requise d'humidité dans la coque soyeuse de sorte qu'il se produit un ramollissement adapté de la sérécine pour le déroulement efficace des filaments des cocons. L'étude indique que les traitements d'imprégnation associés aux traitements de cuisson et d'ajustement sont nécessaires pour atteindre l'absorption requise de l'humidité dans la coque des cocons, ce qui donne plus de soie et moins de déchets. Les résultats indiquent de plus qu'avec une température d'imprégnation élevée de 90° C et une longue durée d'imprégnation de 2 minutes, suivies par une cuisson à 95° C et un profil d'ajustement de la température de 95-50° C, cela permet un ramollissement uniforme de la sérécine et cela donne un rendement plus important de soie grège de meilleure qualité.

e. Effet de la densité des cocons cuits :

Comme pour la teneur en eau du cocon, les températures et les durées élevées d'imprégnation et la faible température d'imprégnation ont aussi une influence significative avec la densité du cocon cuit. Le Tableau I ANOVA indique que la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation ont une influence significative sur la densité du cocon cuit au seuil de 1 %. Le facteur de contribution de la température et de la durée élevées

d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur la densité du cocon cuit est de 7,14 % ; 22,98 % et 13,39 % respectivement.

D'après les résultats présentés dans le Tableau II, on peut observer que lorsque la température d'imprégnation élevée passe de 80° C à 90° C, la densité du cocon cuit augmente de 1,16 % tandis qu'avec la température d'ébullition, on observe une légère baisse de la densité du cocon cuit, c'est à dire de 0,65 %, ce qui est attribué au phénomène de succion à l'entrée. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80° et 90° C pour la pénétration de l'eau en fonction du volume des cocons. On peut donc observer que la température d'imprégnation élevée de 90° à 97° C est adaptée pour les cocons Japonais bivoltins utilisés dans l'étude.

La faible température d'imprégnation entraîne une augmentation de la densité du cocon cuit de 1,36 % lorsque la faible température d'imprégnation passe de 80° C à 60° C, ce qui est attribué à la différence de pression créée entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation (Tableau III). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence importante entre la faible température d'imprégnation de 60° C et de 80° C pour la densité du cocon cuit. On pourrait donc en déduire que la faible température d'imprégnation de 60° C est adaptée pour les cocons bivoltins Japonais utilisés dans l'étude.

Le Tableau IV indique que la longue durée d'imprégnation augmente aussi la densité du cocon cuit de 1,58 % avec un traitement de 2 minutes. Les valeurs D. C au seuil de 5 % n'indiquent pas de différence significative entre un traitement de 1 et 2 minute, ce qui est une tendance similaire à celle indiquée pour les caractéristiques d'absorption de l'eau.

CONCLUSION

D'après cette étude, nous en déduisons qu'avec une température et une durée d'imprégnation importantes et une faible température d'imprégnation, il y a une influence significative sur la teneur en eau du cocon et de la coque, sur l'absorption de l'eau à l'intérieur du cocon (degré de cuisson), sur l'absorption de l'humidité dans la coque et sur la densité du cocon cuit. Le comportement des caractéristiques d'absorption de l'eau pendant le processus de cuisson complète révèle que, la température élevée d'imprégnation de 90° C absorbe le maximum d'eau à l'intérieur des cocons et de la coque. Avec la température d'ébullition il y a moins d'absorption de l'eau dans le cocon et dans la coque, en raison du phénomène de succion à l'entrée. On constate que la faible température d'imprégnation absorbe la quantité d'eau requise à 60° C. La longue durée d'imprégnation de 2 minutes absorbe plus d'eau que la durée d'1 minute chez les cocons bivoltins japonais utilisés. L'étude révèle que les traitements d'imprégnation associés à des traitements de rouissage, de cuisson et d'ajustement standards améliorent les caractéristiques d'absorption de l'eau et entraînent une absorption uniforme de l'eau dans tous les cocons et ces cocons japonais bivoltins donnent donc de meilleurs résultats de dévidage et présentent une meilleure productivité de soie grège de qualité.

STUDIES ON BIVOLTINE COCOON COOKING : PART II. INFLUENCE OF PERMEATION TREATMENTS IN COOKING PROCESS ON REELING CHARACTERISTICS OF JAPANESE BIVOLTINE COCOONS

G. HARIRAJ^{1*}, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR¹

1. Central Silk Technological Research Institute, BTM Layout, Bangalore— 560 068, India.
2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japan —394.

The hot air dried Japanese bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) treated with different high permeation temperatures, high permeation durations and low permeation temperatures followed by standard retting, cooking and adjustment process in pan system of cooking have been found to have a significant influence on reeling characteristics i. e., groping end efficiency, reelability, raw silk percentage, raw silk recovery percentage, reeling tension during reeling, waste generated during reeling, pelade weight generated, sericin loss percentage and degumming loss percentage of silk waste. The study clearly indicates that, permeation temperatures and durations during complete cooking of cocoons in pan system effectively soften the sericin uniformly in different layers of the cocoon shell, thus facilitating improved reeling performance from the hot air dried Japanese bivoltine cocoons. It could be observed that the cocoon cooked using the retting temperature of 50° C for 2 minutes, high permeation temperature of 90° C for 2 minutes, low permeation temperature of 60° C for 1 minute, followed by the cooking temperature of 95° C for 2 minutes duration and adjustment temperature of up to 50° C yields better reeling performance.

Keywords: Bivoltine cocoons, retting, high permeation temperature, low permeation temperature, pan cooking, reelability, reeling tension, sericin dissolution.

INTRODUCTION

In reeling of silk, the productivity and raw silk recovery (quantity) are dependent mainly on the cooking technology [(Shimazaki (1964))]. Cooking of cocoons leads to softening of the sericin layers and agglutination between the cocoon filaments cross over points (cocoon layer and sericin) to release the resistance in the cocoon layers, by using water and steam. Sericin is swollen and softened so that the agglutination of filaments is released during reeling, without breakage and damages. The technology used for cooking, is to process the cocoon layer and soften sericin so that agglutination points are released [Kinoshita *et al.*, (1982)]. The process of cocoon cooking consists of the following stages namely, retting in which the cocoon shells are moistened with hot water, high permeation temperature in which air inside the cocoon is made to expand and expelled to create a pressure difference inside the cocoon, low permeation temperature in which the cocoons are suddenly treated with low temperature water, to make the cocoons suck water through their layers, cooking in which water inside the cocoon is made to exit through the cocoon layers so that the inner cocoon layer sericin

* Author to whom correspondence may be addressed.

is softened effectively and adjustment in which the temperature of water is gradually reduced to enable the cocoon to absorb maximum amount of water inside the cocoon [Kinoshita (1997)].

The selection of suitable cooking treatments, temperature and duration are of extreme importance since it decides of the reeling performance and of the quality of raw silk reeled. Shimazaki and Yoshizawa (1952, 1953a, 1953b), Shimazaki *et al.* (1962b, 1972c and 1966), Shimazaki (1973, 1977, 1983) and Kinoshita *et al.*, (1979 and 1980) carried out a series of systematic studies to standardise the process of cocoon cooking conditions for different qualities of Japanese cocoons.

The available literature clearly confirms that complete cooking processes, improve the productivity and quality of raw silk. Hence, an attempt has been made, in the present work, to study the influence of high permeation temperatures, high permeation durations and low permeation temperatures with constant retting, cooking and adjustment treatments in respect of hot air dried Japanese bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) on reeling characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Raw material:

Commercially available bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) reared in Japan have been used for the study.

Drying conditions:

The cocoons were dried in batch type hot air drier, following the temperature pattern of 115° C – 100° C – 85° C – 70° C 60° C for a period of 5 hours. The degree of drying achieved was 40%.

Retting conditions:

The dried cocoons were taken in a cage and then retted at 50° C for 2 minutes in first pan of cooking.

Permeation conditions:

The retted cocoons were immediately treated at high permeation temperature of 80° C, 90° C and 97° C for 1 minute and 2 minutes duration in second pan of cooking followed by treatment at low permeation temperature of 60° C, 70° C and 80° C for 1 minute duration in third pan of pan system of cooking.

Cooking and adjustment conditions:

The permeated cocoons were transferred to the cooking pan wherein the cocoons are treated at 95° C for 2 minutes in order to cook the cocoons. After the cocoons were cooked, the cocoons were left in the same bath without steam supply for one minute to reduce the temperature from 95° to 93° C. Then a small quantity of water was added to the bath for one minute, to decrease the temperature from 93° to 90° C. The addition of water to the bath was increased gradually so that in a period of 4 minutes the temperature of water was reduced to 50° C. The cocoons were kept at the same temperature for one minute and then removed from the cooking bath for brushing. The total period of adjustment was thus 7 minutes and the cooking was carried out in a pan system of cooking.

Water used:

Tap water having 6.7 pH, 66 ppm hardness, 32 ppm acidity and 46 ppm M-alkalinity was used for the study.

Brushing conditions:

The cooked conditions were then brushed at 80° C in a mechanical brushing unit and then transferred to reeling basin for picking at 40° C.

Reeling conditions:

The 100 good cocoons were selected for reelability test and the test was conducted as per the procedure followed in cocoon testing houses, Japan [Takabayashi *et al.*, (1996)]. The cooked cocoons were then reeled on 3 ends of multiend reeling machine maintaining fixed number of cocoons to a reeling end. The temperature of reeling bath was maintained at 40° C and reeling speed at 100 m / min.

Data collected:

The reelability data i.e., groping end efficiency, average filament length, non-broken filament length, reelability percentage, raw silk percentage, raw silk recovery percentage, waste % on silk weight and pelade weight were observed while reeling different combinations of treatments. The sericin dissolved during the process of cooking and reeling was calculated from the weights of shell, silk and other waste produced during reeling. The waste thus obtained during cooking was treated with sodium carbonate solution 0.5% for about 20 minutes at 92° C and the weight loss was observed. From the difference in weights of the sample the degumming loss of the silk waste was found. The data thus obtained were analysed statistically using SPSS package.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The analysis of variance results for reeling characteristics of Japanese bivoltine cocoons based on permeation treatments are shown in Table I. The mean results for the reeling characteristics of the Japanese bivoltine cocoons treated with different high permeation temperatures and durations are given in Tables II and IV. The mean reeling characteristics results for the cocoons treated with different low permeation temperatures are given in Table III.

1. Analysis of variance results of permeation treatments followed by cooking treatments on reeling characteristics:

The analysis of variance results (Table I) show that a significant difference exists among high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature with regard to reeling characteristics i.e., groping end efficiency (%), reelability (%), raw silk (%), raw silk recovery (%), reeling tension, waste (%) on silk weight, pelade weight, sericin loss (%) and degumming loss (%) of silk waste. From the results, it could be inferred that the permeation temperatures are significant factors, which determine the reeling characteristics of Japanese bivoltine cocoons. The interactions among permeation temperatures and duration are also found to have a significant effect with all reeling characteristics.

2. Effect of permeation treatments on reeling characteristics:**a. Groping end efficiency:**

The ANOVA results (Table I) indicate that the groping end efficiency is significantly influenced by high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature at 1% level. The contribution factors of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on groping end efficiency are 12.82%, 1.84% and 32.2%. It could be observed from Table II that as the high permeation temperature increased from 80° C to 97° C, the groping end efficiency is increased by 2.5%. The C. D. values at 5% level indicated a significant difference between the high permeation temperatures of 80°, 90° and 97° C on groping end efficiency, which is attributed to the uniform softening of sericin of the cocoons during the cooking process at higher high permeation temperatures.

Table I. Analysis of variance result of influence of permeation treatments on reeling characteristics of Japanese bivoltine cocoons.

Tableau I. Analyse de variance concernant les résultats de l'influence des traitements d'imprégnation sur les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins Japonais.

Source	Means sum of squares / Somme moyenne des carrés									
	Degree of freedom	Groping end efficiency	Reela-bility	Raw silk	Raw silk recovery	Reeling tension	Waste (%) on silk weight	Pelade weight	Sericin dissolution	Degumming loss of silk waste
	Degré de liberté	Efficacité du purgeage (%)	Dévida-bilité (%)	Soie grège (%)	Récupération de soie grège (%)	Tension de dévidage (g/d)	Déchets par rapport au poids de la soie (%)	Poids de la pélette (g)	Dissolution de la sérécine (%)	Perte au décreusage des déchets de soie (%)
High permeation temperature <i>Température d'imprégnation élevée</i>	2	24.667**	83.96**	2.118**	7.487*	1.03×10^{-3} **	3.631**	9.83×10^{-7} **	2.316**	175.5**
High permeation duration <i>Longue durée d'imprégnation</i>	1	7.407**	93.142**	0.973**	3.486	3.36×10^{-2} **	0.161	2.03×10^{-5} *	5.239**	37.07**
Low permeation temperature profile <i>Profil de faible température d'imprégnation</i>	2	61.167**	112.95**	0.174*	0.614	4.91×10^{-3} **	2.196**	3.12×10^{-6}	0.439*	0.319
High permeation temperature × high permeation duration <i>Température d'imprégnation élevée × longue durée d'imprégnation</i>	2	22.74*	25.62**	1.427**	5.06	2.96×10^{-3} **	0.376**	3.55×10^{-7} **	2.388**	1.729**
High permeation duration × Low permeation temperature <i>Longue durée d'imprégnation × faible température d'imprégnation</i>	2	5.35**	54.13**	0.671**	2.40	2.91×10^{-3} **	2.518**	4.71×10^{-6} **	3.434**	0.841**
High permeation temperature × low permeation temperature <i>Température d'imprégnation élevée × faible température d'imprégnation</i>	4	16.08**	116.78**	0.772**	2.718	9.30×10^{-4} **	0.684**	5.55×10^{-6} *	2.007**	3.048**
Interaction effect / <i>Effet d'interaction</i>	4	15.102**	13.96**	1.654**	5.861*	1.13×10^{-3} **	0.175*	6.125×10^{-6} **	1.666**	3.931**
Error / <i>Ecart</i>	36	0.481	3.408	6.10×10^{-2}	2.351	1.487×10^{-5}	5.86×10^{-2}	6.736×10^{-8}	0.100	0.176

* Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*. ** Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*

Table II. Mean results of reeling characteristics with reference to high permeation temperature during cooking process of Japanese bivoltine cocoons.

Tableau II. Résultats moyens concernant les caractéristiques de dévidage avec une température d'imprégnation élevée pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins japonais.

High permeation temperature	Groping end efficiency (%)	Reelability (%)	Raw silk (dry) (%)	Raw silk recovery (%)	Reeling tension (g/d)	Waste (%) on silk weight	Pelade weight (g)	Sericin dissolution (%)	Degumming loss of silk waste (%)
<i>Température d'imprégnation élevée</i>	<i>Efficacité du purgeage (%)</i>	<i>Dévidabilité (%)</i>	<i>Soie grège (sèche) (%)</i>	<i>Récupération de soie grège (%)</i>	<i>Tension de dévidage (g/d)</i>	<i>% de déchets par rapport au poids de la soie</i>	<i>Poids de la pélette (g)</i>	<i>Dissolution de la séricine (%)</i>	<i>Perte au décreusage des déchets de soie (%)</i>
80° C	93.33 (2.79)	89.81 (3.99)	46.45 (0.414)	87.53 (1.52)	0.387 (0.0359)	4.83 (0.613)	0.0145 (0.00127)	4.09 (0.863)	24.84 (1.14)
90° C	94.67 (2.35)	93.72 (4.61)	47.08 (0.855)	88.73 (1.85)	0.372 (0.0219)	4.05 (0.504)	0.0141 (0.00139)	3.50 (0.543)	25.39 (1.45)
97° C	95.67 (2.45)	90.16 (5.37)	46.98 (0.350)	88.55 (1.55)	0.382 (0.0446)	5.25 (0.553)	0.0145 (0.00123)	4.15 (1.04)	19.73 (1.06)
CD at 5%	0.78	2.09	0.28	1.74	0.004	0.27	0.0003	0.36	0.47

Values in the parenthesis are standard deviation values / Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.

Table III shows that as the low permeation temperature is increased from 60° C to 80° C, the groping end efficiency is decreased by 3.8%. The C. D. values at 5% indicate that significant difference is observed between the low permeation temperatures of 60°, 70° and 80° C on groping end efficiency. This is attributed to the fact that as higher difference between high permeation temperature and low permeation temperature, more air pressure difference is created and more water permeates inside the cocoons. Thus at 60° C low permeation temperature it helps in uniform softening of sericin resulting in more groping end efficiency.

The results given in Table IV shows that the higher the high permeation duration is, the more the groping end efficiency is increased. This may be attributed to more compactness of cocoon shell of Japanese race bivoltine cocoons, which requires more duration to soften the sericin. However the C. D. values at 5% level, did not show significant difference between the groping end efficiency for different high permeation durations.

b. Reelability (%):

Table I shows that the reelability percentage is significantly influenced by high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature at 1% level. The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on reelability are 12.47%, 6.95% and 16.96% respectively. From the results given in Table II, it could be observed that as the high permeation temperature is increased from 80° C to 90° C, the reelability

is increased by 4.35%. It is interesting to note that, the drop in reelability is observed at boiling temperature to the extent of 3.8%, which is because at boiling temperature cocoons absorb less water due to entry suction phenomenon. The C. D. values at 5% level indicate that a significant difference exists between the high permeation temperatures of 80°, 90° and 97° C with regard to reelability of the cocoons. This is because of uniform sericin softening due to complete cooking of Japanese bivoltine cocoons.

Table III shows a decrease in the reelability of the cocoons by 5.18%, as the difference in low permeation temperature increased from 60° C to 80° C. This is attributed to the pressure difference created by the difference in high permeation temperature and low permeation temperature during cooking process. However, the C. D. values at 5% also showed a significant difference among the low permeation temperatures with regard to reelability of Japanese bivoltine cocoons.

Table IV shows that the high permeation duration increases the reelability of the cocoons by 2.91% as the duration is increased from 1 minute to 2 minutes treatments, which is significantly more as indicated by the C. D. values at 5% level.

Table III. Mean results of reeling characteristics with reference to low permeation temperature during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau III. Résultats moyens concernant les caractéristiques de dévidage avec la faible température d'imprégnation pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins japonais.

Low permeation temperature	Groping end efficiency	Reelability (%)	Raw silk (dry)	Raw silk recovery	Reeling tension	Waste (%) on silk weight	Pelade weight	Sericin dissolution	Degumming loss of silk waste
<i>Faible température d'imprégnation</i>	<i>Efficacité du purgeage</i>	<i>Dévidabilité</i>	<i>Soie grège (sèche)</i>	<i>Récupération de soie grège</i>	<i>Tension de dévidage</i>	<i>(%) de déchets par rapport au poids de la soie</i>	<i>Poids de la pélette</i>	<i>Dissolution de la séricine</i>	<i>Perte au décreusage de déchets de soie</i>
	(%)	(%)	(%)	(%)	(g/d)		(g)	(%)	(%)
60° C	96.28 (1.13)	93.27 (4.88)	43.906 (0.692)	88.40 (1.92)	0.370 (0.0237)	4.41 (0.342)	0.0141 (0.00128)	3.779 50.899°	23.17 (3.108)
70° C	94.78 (1.86)	91.98 (3.35)	46.88 (0.73)	88.35 (1.63)	0.371 (0.0259)	4.97 (0.675)	0.0142 (0.00145)	3.881 (0.804)	23.40 (3.184)
80° C	92.61 (3.20)	88.44 (5.26)	46.725 (0.492)	88.06 (1.62)	0.399 (0.0455)	5.04 (0.729)	0.0149 (0.00101)	4.086 (0.941)	23.39 (2.310)
CD at 5%	0.78	2.09	0.28	1.74	0.004	0.27	0.0003	0.36	0.47

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.*

c. Raw silk (%):

The ANOVA Table I shows that the raw silk yield is significantly influenced by high permeation temperature and high permeation duration at 1% level, whereas low permeation temperature at 5% level. The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on dry raw silk % are 19%, 4.21% and 1.04% respectively. Thus indicating that high permeation temperature and duration and low permeation temperature used during cooking has a significant role in improving the raw silk yield. The results given in Table II show that at 90° C high permeation temperature gives 47.08% dry raw silk percentage. It is interesting to note that up to 90° C, the raw silk percentage in Japanese bivoltine cocoons is higher, whereas at boiling temperature the raw silk percentage decreases. This is due to the entry suction phenomenon, which reduces the water entry at boiling temperature and results in less permeation of water during cooking. These cocoons break more during reeling and repeated brushing reduces the raw silk yield. The C. D. values at 5% level, indicate that a significant difference exists between the high permeation temperature of 80° C and 90° C, whereas between 90° C and 97° C no significant difference exists with regard to raw silk percentage. Hence the high permeation temperature of above 90° C is suitable for better yield from Japanese bivoltine cocoons.

The low permeation temperature of 60° C and high permeation duration of 2 minutes showed better raw silk percentage (Table III and IV). The study indicates that suitable selection of time and temperature of permeation treatments results in more silk production and less waste. The results further indicate that at 90° C high permeation temperature and 2 minutes high permeation duration, low permeation temperature of 60° C, followed by cooking and adjustment treatments in cooking process improve the raw silk yield significantly.

Table IV. Mean results of reeling characteristics with reference to high permeation duration during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau IV. Résultats moyens concernant les caractéristiques de dévidage avec une longue durée d'imprégnation pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins Japonais.

High permeation duration	Groping end efficiency	Reelability	Raw silk (dry)	Raw silk recovery	Reeling tension	Waste (%) on silk weight	Pelade weight	Sericin dissolution	Degumming loss of silk waste
<i>Longue durée d'imprégnation</i>	<i>Efficacité du purgeage (%)</i>	<i>Dévidabilité (%)</i>	<i>Soie grège (sèche) (%)</i>	<i>Récupération de soie grège (%)</i>	<i>Tension de dévidage (g/d)</i>	<i>Déchets par rapport à la soie (%)</i>	<i>Poids de la pélette (g)</i>	<i>Dissolution de la sérécine (%)</i>	<i>Perte au décreusage des déchets de soie (%)</i>
1 minute	94.19 (2.37)	89.92 (5.14)	46.70 (0.470)	88.0 (1.44)	0.355 (0.0165)	4.86 (0.647)	0.0150 (0.0011)	4.23 (0.714)	22.49 (1.89)
2 minutes	94.93 (2.93)	92.54 (4.44)	46.97 (0.758)	88.53 (1.93)	0.405 (0.0312)	4.75 (0.682)	0.0150 (0.0012)	3.60 (0.924)	24.15 (3.01)
CD at 5%	1.11	2.95	0.40	2.45	0.006	0.39	0.0004	0.51	0.67

Values in the parenthesis are standard deviation values / Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.

d. Raw silk recovery (%):

Table I shows that raw silk recovery is significantly influenced by the high permeation temperature at 1% level. The contribution factor of high permeation temperature on raw silk recovery is 6.69%. It is observed that as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C, the raw silk recovery was increased by 1.37% whereas the increase in high permeation temperature from 90° C to boiling temperature showed a 0.2% reduction in raw silk recovery (Table II). The C. D. values at 5% level indicate that no significant difference exists with regard to raw silk recovery percentage between the high permeation temperatures of 80° C to 97° C.

e. Reeling tension:

The ANOVA Table I shows that the reeling tension is significantly influenced by, high permeation temperature, duration and low permeation temperature at 1(%) level. The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on reeling tension are 3.08 %, 50.9% and 14.83% respectively. The results given in Table II show that the reeling tension is of 0.387 g/d at 80° C, 0.372 g/d at 90° C and 0.382g/d at 97° C high permeation temperatures. The C. D. values at 5% level indicate a significant difference between the high permeation temperatures of 80°, 90° and 97° C with regard to reeling tension.

The results given in Table III show that low permeation temperature has also a significant influence on reeling tension. It is interesting to note that as the low permeation temperature increased, the reeling tension also increases by 7.84%. This is attributed to the fact that as the difference between high permeation temperature and low permeation temperature is less, softening of sericin varies resulting in tension variation. Thus at 60° C low permeation temperature showed less reeling tension. The C. D. values at 5% level indicate a significant difference between the low permeation temperatures profiles of 60° C and 80° C with regard to reeling tension.

Table IV shows that as the high permeation duration is increased from 1 minute to 2 minutes, the reeling tension is increased by 14.1%. The C. D. values at 5% also indicated a significant difference in reeling tension. This is attributed to uniform softening of sericin at 2 minutes high permeation duration treatment, leading to better softening of agglutination points in the cocoon shell leading to easy unwinding of silk.

f. Waste % on silk weight:

Table I shows that the waste % on silk weight is significantly influenced by high permeation temperatures and low permeation temperature at 1% level, whereas high permeation duration does not show a significant influence on waste percentage. The contribution factor of high permeation temperature and low permeation temperature on waste % on silk weight are 30.86% and 18.47% respectively. It could be observed that the increase in the high permeation temperature from 80° C to 90° C, decreases the waste (%) on silk weight by 16.1%, whereas increase in the high permeation temperature from 90° C to boiling temperature, increases the waste % on silk weight by 22.8% (Table II). This is because of the over softening of sericin in outer layers at boiling temperature. The high permeation temperature of 90° C is observed to be quite suitable for bivoltine cocoons with respect to waste % on silk weight. The C. D. values at 5% level indicate that a significant difference exists between the high permeation temperatures of 80° to 97° C with regard to waste % on silk weight.

The low permeation temperature showed a decrease in the waste % on silk weight by 14.3%, as the temperature is decreased from 80° C to 60° C. This is attributed to non-uniform treatment at higher low permeation temperature due to less water permeation, which in turn results in more dropping and repeated brushing which increased the waste percentage (Table III). However, the C. D. values at 5% showed a significant difference between low temperatures of 80° C to 60° C with regard to waste (%) on silk weight.

g. Pelade weight:

The ANOVA Table I shows that the pelade weight is significantly influenced by high permeation temperature, duration and low permeation temperature at 1% level. The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on pelade weight are 2.1%, 23.2% and 7% respectively. The pelade weight is reduced by 2.76% as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C, whereas at boiling temperature the pelade weight increased by 2.84% (Table II). This is due to entry suction phenomenon wherein water penetration is affected at boiling temperature leading to an increase in the pelade weight at boiling temperature. The C. D. values at 5% level also indicate a significant difference between the pelade weights on different high permeation temperature treatments.

The results given in Table III show that low permeation temperature also significantly influences the pelade weight. The low permeation temperature showed a decrease in the waste % on silk weight by 5.67%, as the temperature decreased from 80° C to 60° C. The C. D. values at 5% showed a significant difference between low permeation temperatures of 80° C to 60° C with regard to pelade weight. This is attributed to non-uniform treatment of inner layers resulting in increased pelade weight.

Table IV shows that as the high permeation duration is increased from 1 minute to 2 minutes, the pelade weight is decreased by 8.7%, which is due to uniform softening of inner layers of cocoon shell at 2 minutes high permeation duration treatment. The C. D. values at 5% also showed a significant difference in pelade weight.

h. Sericin loss (%):

ANOVA Table I shows that the sericin dissolution during cooking is significantly influenced by high permeation temperature and high permeation duration at 1% level whereas low permeation temperature at 5% level. The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on sericin dissolution are 10.9%, 12.6% and 1.7% respectively. The results given in Table II showed that a decreasing trend in sericin dissolution by 14.4% as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C. It is interesting to note that at 97° C, maximum sericin dissolution occurs because of over softening of sericin in Japanese bivoltine cocoons. The C. D. values at 5% level, indicate that a significant difference exists between high permeation temperatures, with regard to sericin dissolution percentage.

The low permeation temperature shows that the sericin dissolution percentage reduced by 7.51%, as the low permeation temperature decreased from 80° C to 60° C, which is attributed to reduction in temperature difference between high permeation temperature and low permeation temperature treatment (Table III). The C. D. values at 5% indicate a significant difference between the low permeation temperatures with regard to sericin dissolution percentage.

Table IV shows that the high permeation duration also decreases the sericin dissolution percentage by 14.9% as the duration is increased from 1 minute to 2 minutes, which is due to non uniform softening of sericin at 1 minute treatment leading to more dropping of cocoons during reeling process. The C. D. values at 5% indicate a significant difference between the high permeation duration with regard to sericin dissolution percentage.

i. Degumming loss of silk waste % after complete cooking:

Table I shows that degumming loss of silk waste is significantly influenced by the high permeation temperature and high permeation duration at 1(%) level, whereas low permeation temperature did not have a significant influence on degumming loss of silk waste. The contribution factor of high permeation temperature and high permeation duration on degumming loss of silk waste are 81.9% and 8.6%. It could be observed that, the degumming loss of silk waste is 2.16% more at 90° C high permeation temperature (Table II). The C. D. values at 5% level, indicate a significant difference among high permeation temperature with regard to degumming loss of silk waste. It is interesting to

note that boiling temperature showed a lower degumming loss of silk waste as more sericin dissolution has taken place during reeling itself.

Table IV shows that the high permeation duration also increased the degumming loss of silk waste by 7.38%. The C. D. values at 5% showed a significant difference between the high permeation durations.

CONCLUSION

Based on the above study, it is inferred that, at the standard retting temperature and duration, the cooking temperature and duration, adjustment profile, the high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature has a significant influence on the following reeling characteristics i.e., groping end efficiency, reelability percentage, raw silk percentage, raw silk recovery percentage, reeling tension, waste % on silk weight, pelade weight, sericin dissolution percentage and degumming loss percentage of silk waste. The behaviour of reeling characteristics on high permeation temperatures and duration and low permeation temperature revealed that, the high permeation temperature of 90° C, soften the cocoon shell uniformly. However, the boiling temperatures over soften the sericin and entry suction phenomenon reduces the water permeation, resulting in lower reeling performance.

The 60° C low permeation temperature is found to yield better reeling performance. The low permeation temperature of 80° C did not give good results due to improper softening of sericin, which is because of less temperature difference between high permeation temperature and low permeation temperature. The study reveals that high permeation temperature of 90° C at 2 minutes duration followed by low permeation temperature of 60° C along with other cooking treatments gives better reeling results in case of the bivoltine cocoons.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors express their gratitude to Dr T. Nishide, Director, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japan for his guidance in conducting the study. The thanks are due to staff of NISES, Okaya for their co-operation while conducting the study.

REFERENCES

- KINOSHITA H., WATESE H., SUGENUMA Y. (1979) Studies on the systemisation of cocoon cooking I. On the analysis of the reeling characteristics by multivariate analysis. The Journal of sericultural science of Japan, Vol. 48, No.5, pp. 404-410.
- KINOSHITA H., WATESE H., SUGENUMA Y. (1980) Studies on the systemisation of cocoon cooking II. On the optimisation of cocoon cooking by temperature patterns. The Journal of sericultural science of Japan, Vol. 49, No. 3, pp 352-358.
- KINOSHITA H., KUSAMA T., KOEKE R. (1982) Studies related to cocoon pre-treatment before cooking. Filature and silk conference report, Vol. 32, pp. 10-13.
- KINOSHITA H. (1997) Development of optimum control method of cocoon cooking by the application of expert system, Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., No. 19, Oct., pp.1-119.
- SHIMAZAKI A., YOSHIZAWA I. (1952) The influence of temperature and time in cooking treatment process, Filature and silk conference report, Vol. 2, pp. 63-65.
- SHIMAZAKI A., YOSHIZAWA I. (1953a) Analysis of cocoon cooking process based on estimation I. Regression correlation between number of casting and treatment duration, Filature and silk conference report, Vol. 3, pp. 119-125.
- SHIMAZAKI A., YOSHIZAWA I. (1953b) Analysis of cocoon cooking process based on estimation I. Regression correlation between section wise number of casting and treatment duration. Filature and silk conference report, Vol. 3, pp.126-139.

- SHIMAZAKI A., OSAN, TAKENAGA (1962b) Cocoon treatment and raw material uniformity I. Cocoon getting crushed during cooking process, Filature and silk conference report, Col. 12, pp.8-11.
- SHIMAZAKI A., SEKIJIMA K, FURUYAMA (1962c) Cocoon treatment and raw material uniformity II. Pelade waste distribution, Filature and silk conference report, Vol. 12, pp. 12-17.
- SHIMAZAKI A. Filature technology lecture, Published by sericultural association, Tokyo, (1964) 89.
- SHIMAZAKI A., KONO UCHIDA SAITO (1966) Analysis of cocoon cooking trend in cocoon cooking process I. Features of light and heavy permeation treatment and steam cooking, Filature and silk conference report, Vol.16, pp. 54.57.
- SHIMAZAKI A.(1973) Management engineering manual. Published by agricultural statistics association, Tokyo, pp. 291.
- SHIMAZAKI A. (1977) Problems related to Japan reeling technology and decreasing of cocoon production, Filature summer seminar – Report, Vol. 30, pp 34-54.
- SHIMAZAKI A.(1983) Subject task force of future reeling technology, Filature summer seminar – Report, Vol. 36, pp. 43-62.
- TAKABAYASHI C., KINOSHITA H., TSUBOUCHI K., TSUBOI H., WATANABE T., SHIMIZU S., HARIRAJ G., SUBHAS V. NAIK, MAHESH K. N. (1996) Manual on bivoltine silk reeling. Japan International Co-operation Agency, Bangalore, India, pp. 1-12.

ETUDES SUR LA CUISSON DES COCONS BIVOLTINS : DEUXIEME PARTIE. INFLUENCE DES TRAITEMENTS D'IMPREGNATION DANS LE PROCESSUS DE CUISSON SUR LES CARACTERISTIQUES DE DEVIDAGE DES COCONS BIVOLTINS JAPONAIS

G. HARIRAJ^{1*}, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR¹

1. Central Silk Technological Research Institute, BTM Layout, Bangalore – 560 068, Inde.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japon – 394.

On constate que les traitements avec différentes températures d'imprégnation élevée, durées d'imprégnation longues et températures d'imprégnation faibles suivies par un rouissage standard, une cuisson et un ajustement de cuisson à la bassine ont une influence importante sur les caractéristiques de dévidage, c'est à dire sur l'efficacité de purgeage, sur la dévidabilité, sur le pourcentage de soie grège, sur le pourcentage de récupération de soie grège, sur la tension de dévidage pendant le dévidage, sur les déchets générés pendant le dévidage, sur le poids de la pélette, sur le pourcentage de perte de sérécine et sur le pourcentage de perte au décreusage des déchets de soie. L'étude indique clairement que les températures et les durées d'imprégnation pendant la cuisson complète des cocons avec le système à la bassine ramollissent efficacement la sérécine de manière uniforme dans les différentes couches de la coque soyeuse, ce qui facilite la performance de dévidage des cocons Japonais bivoltins séchés à l'air chaud. On peut observer que les cocons cuits en utilisant la température de rouissage de 50° C pendant 2 minutes, la température d'imprégnation élevée de 90° C pendant 2 minutes, une faible température d'imprégnation de 60° C pendant 2 minutes, une température d'imprégnation élevée de 90° C pendant 2 minutes, une faible température d'imprégnation de 60° C pendant 1 minute, suivies par une température de cuisson de 95° C pendant une durée de 2 minutes et une température d'ajustement jusqu'à 50° C donnent une meilleure performance de dévidage.

INTRODUCTION

Dans le dévidage de la soie, la productivité et la récupération de soie grège (quantité) dépendent principalement de la technologie de cuisson [Shimazaki (1964)]. La cuisson des cocons entraîne le ramollissement des couches de sérécine et l'agglutination entre les points de croisement des filaments des cocons (couche du cocon et sérécine) pour libérer la résistance des couches de cocons, en utilisant l'eau et la vapeur. La sérécine gonfle et ramollit de sorte que l'agglutination des filaments se libère pendant le dévidage sans ruptures et sans dégâts. La technologie utilisée pour la cuisson consiste à traiter les couches du cocon et à ramollir la sérécine de sorte que les points d'agglutination se libèrent [Kinoshita et coll., (1982)]. Le processus de cuisson des cocons consiste dans les étapes suivantes à savoir, le rouissage grâce auquel les coques soyeuses sont humidifiées par l'eau chaude, la température d'imprégnation élevée grâce à laquelle l'air à l'intérieur du cocon se répand et est expulsé pour créer une différence de pression à l'intérieur du cocon, la faible température d'imprégnation par laquelle

* Auteur auquel adresser la correspondance.

les cocons sont soudainement traités avec une eau à faible température pour faire absorber l'eau dans les couches des cocons, la cuisson par laquelle l'eau à l'intérieur du cocon sort par les couches du cocon de sorte que la couche interne de sérécine ramollit efficacement et l'ajustement par lequel la température de l'eau diminue progressivement pour permettre au cocon d'absorber la quantité maximum d'eau à l'intérieur du cocon [Kinoshita (1997)].

Le choix des traitements de cuisson, d'une température et d'une durée adaptées, sont d'une importance primordiale puisqu'ils décident de la performance de dévidage et de la qualité de la soie grège dévidée. Shimazaki et Yoshizawa (1952, 1953a, 1953b), Shimazaki et coll., (1962b, 1972c et 1966), Shimazaki (1973, 1977, 1983) et Kinoshita et coll., (1979 et 1980) ont réalisé une série d'études systématiques pour standardiser le traitement de cuisson du cocon avec différentes qualités de cocons Japonais.

La littérature disponible confirme clairement que les processus de cuisson complète améliorent la productivité et la qualité de la soie grège. Nous avons donc essayé d'étudier l'influence des températures d'imprégnation élevée, des longues durées d'imprégnation et des faibles températures d'imprégnation avec des traitements de rouissage, de cuisson et d'ajustement constants sur les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins Japonais séchés à l'air chaud (race Kinshu × Showa).

MATERIELS ET METHODES

Matières premières :

Dans cette étude on utilise des cocons bivoltins disponibles commercialement élevés au Japon (race Kinshu × Showa).

Conditions de séchage :

On sèche les cocons dans un séchoir à air chaud par lots, suivi par un profil de température de 115° C – 100° C – 85° C – 70° C – 60° C pendant une période de 5 heures. On atteint un degré de séchage de 40 %.

Conditions de rouissage :

On place les cocons secs dans une cage et on les rouit à 50° C pendant 2 minutes dans la première bassine de cuisson.

Conditions d'imprégnation :

On traite les cocons rouis immédiatement à une température d'imprégnation élevée de 80° C, 90° C et de 97° C pendant une durée d'1 et de 2 minutes dans la deuxième bassine de cuisson, puis à une faible température d'imprégnation de 60° C, 70° C et de 80° C pendant une durée d'1 minute dans la troisième bassine du système de cuisson à la bassine.

Conditions de cuisson et d'ajustement :

On transfère les cocons imprégnés dans la bassine de cuisson où les cocons sont traités à 95° C pendant 2 minutes pour cuire les cocons. Après la cuisson des cocons, on laisse les cocons dans le même bain sans apport de vapeur pendant une minute pour diminuer la température de 95° à 93° C. Puis on ajoute une petite quantité d'eau au bain pendant une minute pour diminuer la température de 93° à 90° C. On ajoute progressivement de l'eau au bain de sorte qu'en une période de 4 minutes, la température de l'eau baisse à 50° C. On conserve les cocons à la même température pendant une minute puis on les retire du bain de cuisson pour les purger. La période totale d'ajustement dure donc 7 minutes et on procède à la cuisson avec le système de cuisson à la bassine.

Eau utilisée :

Dans cette étude, on utilise de l'eau du robinet au pH de 6,7, avec une dureté de 66 ppm, une acidité de 32 ppm et une alcalinité-M de 46 ppm.

Conditions de purgeage :

On purge ensuite les cocons cuits à 80° C dans une unité de purgeage mécanique puis on les transfère dans une bassine de dévidage pour les sortir à 40° C.

Conditions de dévidage :

On sélectionne 100 bons cocons pour un test de dévidage et on réalise le test d'après la procédure suivie dans les lieux de test des cocons, au Japon [Takabayahsi et coll., (1996)]. On dévide ensuite les cocons cuits sur 3 bouts d'une bassine de dévidage multibouts en maintenant un nombre fixe de cocons. On maintient la température du bain de dévidage à 40° C et la vitesse de dévidage à 100 m / minute.

Données recueillies :

On observe les données de dévidabilité, c'est à dire l'efficacité de purgeage, la longueur moyenne du filament, la longueur du filament sans rupture, le pourcentage de dévidabilité, le pourcentage de soie grège, le pourcentage de récupération de soie grège, le % de déchets par rapport au poids de la soie et le poids de la pellette pour les différentes combinaisons de traitement. On mesure la sérécine dissoute pendant le processus de cuisson et de dévidage d'après les poids de la coque, de la soie et des autres déchets produits pendant le dévidage. Les déchets que l'on obtient ainsi pendant la cuisson sont traités avec une solution de carbonate de sodium à 0,5 % pendant environ 20 minutes à 92° C et on observe la perte de poids. On évalue la perte au décreusage des déchets de soie d'après les différences de poids de l'échantillon. On analyse les données ainsi obtenues en utilisant un système statistique SPSS.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse de variance pour les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins d'après les traitements d'imprégnation sont présentés dans le Tableau I. Les résultats moyens pour les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins Japonais traités avec différentes températures et durées d'imprégnation élevées sont présentés dans les Tableaux II et IV. Les résultats pour les caractéristiques moyennes de dévidage des cocons traités avec différentes températures d'imprégnation faibles apparaissent dans le Tableau III.

1. Résultats de l'analyse de variance pour les traitements d'imprégnation suivis par les traitements de cuisson sur les caractéristiques de dévidage :

Les résultats de l'analyse de variance (Tableau I) montrent qu'il existe une différence importante entre la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation en ce qui concerne les caractéristiques de dévidage, c'est à dire l'efficacité de purgeage (%), la dévidabilité (%), la soie grège (%), la récupération de soie grège (%), la tension de dévidage, les déchets (%) par rapport au poids de la soie, le poids de la pélette, la perte de sérécine (%) et la perte au décreusage (%) des déchets de soie. D'après les résultats, on peut en déduire que les températures d'imprégnation sont des facteurs importants, qui déterminent les caractéristiques de dévidage des cocons bivoltins Japonais. Il s'avère que les interactions entre les températures d'imprégnation et la durée ont aussi un effet significatif sur toutes les caractéristiques de dévidage.

2. Effet des traitements d'imprégnation sur les caractéristiques de dévidage :

a. Efficacité de purgeage :

Les résultats ANOVA (Tableau I) indiquent que l'efficacité de purgeage est très influencée par la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation au seuil de 1 %. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur l'efficacité de dévidage sont de 12,82 %, 1,84 % et 32,2 %. On peut observer d'après le Tableau II qu'alors que la température d'imprégnation élevée augmente de 80° C à 97° C, l'efficacité du purgeage augmente de 2,5%. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80°, 90° et 97° C sur l'efficacité de purgeage, qui est attribuée au ramollissement uniforme de la séricine des cocons pendant le processus de cuisson à des températures d'imprégnation élevées plus importantes.

Le Tableau III montre qu'alors que la faible température d'imprégnation augmente de 60° C à 80° C, l'efficacité de purgeage diminue de 3,8 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent qu'on observe une différence importante entre les faibles températures d'imprégnation de 60°, 70° et 80° C sur l'efficacité de purgeage. On attribue cela au fait que lorsqu'il y a une plus grande différence entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation cela crée une différence de pression plus importante et plus d'eau pénètre à l'intérieur des cocons. La faible température d'imprégnation de 60° C favorise un ramollissement uniforme de la séricine, ce qui permet une meilleure efficacité de purgeage.

Les résultats présentés dans le Tableau IV montrent que plus la longue durée d'imprégnation est importante, plus l'efficacité de purgeage augmente. Cela pourrait venir de la nature plus compacte de la coque soyeuse des cocons bivoltins de race japonaise, qui nécessite une durée plus longue pour ramollir la séricine. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 %, pour les différentes durées d'imprégnation élevée n'indiquent pas une différence importante pour l'efficacité de purgeage.

b. Dévidabilité (%) :

Le Tableau I montre que le pourcentage de dévidabilité est très influencé par la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation au seuil de 1 %. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur la dévidabilité sont respectivement de 12,47 % ; 6,95 % et 16,96 %. D'après les résultats présentés dans le Tableau II, on peut observer qu'alors que la température d'imprégnation élevée augmente de 80° C à 90° C, la dévidabilité augmente de 4,35 %. Il est intéressant de noter qu'on observe une baisse de la dévidabilité de l'ordre de 3,8 % avec une température d'ébullition parce qu'avec une température d'ébullition, les cocons absorbent moins d'eau à cause du phénomène de succion à l'entrée. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il existe une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80°, 90° et 97° C en ce qui concerne la dévidabilité des cocons. Cela provient de l'amollissement uniforme de la séricine obtenu avec la cuisson complète des cocons bivoltins Japonais.

Le Tableau III montre une baisse de la dévidabilité des cocons de 5,18 %, lorsque la faible température d'imprégnation passe de 60° C à 80° C. On attribue cela à la différence de pression créée par la différence entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation au cours du processus de cuisson. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent aussi une différence importante entre les températures d'imprégnation faible concernant la dévidabilité des cocons bivoltins Japonais.

Le Tableau IV montre que la longue durée d'imprégnation augmente la dévidabilité des cocons de l'ordre de 2,91 % lorsque la durée des traitements passe de 1 à 2 minutes, ce qui est significativement plus comme l'indiquent les valeurs D. C. au seuil de 5 %.

c. Soie grège (%) :

Le Tableau ANOVA I montre que le rendement en soie grège est très influencé par la température d'imprégnation élevée et la longue durée d'imprégnation au seuil de 5 %, tandis qu'en ce qui concerne la faible température d'imprégnation c'est au seuil de 1 %. Le facteur de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur le % de soie grège sèche sont de respectivement 19 % ; 4,21 % et 1,04 %. Cela indique donc que la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation utilisées pendant la cuisson ont un rôle significatif pour améliorer le rendement en soie grège. Les résultats présentés dans le Tableau II montrent qu'avec une température d'imprégnation élevée de 90° C, cela donne un pourcentage de soie grège sèche de 47,08 %. Il est intéressant de noter que jusqu'à 90° C, le pourcentage de soie grège des cocons bivoltins Japonais est plus élevé, tandis qu'avec une température d'ébullition, le pourcentage de soie grège diminue. Cela est dû au phénomène de succion à l'entrée, qui diminue l'entrée d'eau avec la température d'ébullition et entraîne moins de pénétration de l'eau pendant la cuisson. Ces cocons se cassent plus facilement au dévidage et le purgeage répété diminue le rendement en soie grège. Les valeurs D. C. au seuil de 5 %, indiquent qu'il existe une différence importante entre la température d'imprégnation élevée de 80° C et 90° C, tandis qu'entre 90° C et 97° C, il n'existe pas de différence importante pour le pourcentage de soie grège. Ainsi, une température d'imprégnation élevée au-dessus de 90° C est adaptée pour un meilleur rendement avec des cocons bivoltins Japonais.

La faible température d'imprégnation de 60° C et la longue durée d'imprégnation de 2 minutes donnent un meilleur pourcentage de soie grège (Tableau III et IV). L'étude indique que le choix de traitements de durée et de température d'imprégnation adaptés donne une production de soie plus importante et moins de déchets. De plus, les résultats indiquent qu'avec une température d'imprégnation élevée de 90° C et une longue durée d'imprégnation de 2 minutes, une faible température d'imprégnation de 60° C, suivis par des traitements de cuisson et d'ajustement pendant le processus de cuisson, cela améliore le rendement en soie grège de manière considérable.

d. Récupération de soie grège (%) :

Le Tableau I montre que la récupération de soie grège est très influencée par la température d'imprégnation élevée au seuil de 1 %. Le facteur de contribution de la température d'imprégnation élevée sur la récupération de soie grège est de 6,69 %. On observe qu'alors que la température d'imprégnation élevée augmente de 80° C à 90° C, la récupération de soie grège augmente de 1,37 % tandis que l'augmentation de la température d'imprégnation élevée de 90° C à une température d'ébullition entraîne une diminution de 0,2 % de la récupération de soie grège (Tableau II). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il n'existe pas de différence importante pour le pourcentage de récupération de soie grège entre les températures d'imprégnation élevée de 80° à 97° C.

e. Tension de dévidage :

Le Tableau ANOVA I montre que la tension de dévidage est significativement influencée par la température, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation au seuil de 1 %. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur la tension de dévidage sont de respectivement 3,08 % ; 50,9 % et 14,83 %. Les résultats présentés dans le Tableau II montrent que la tension de dévidage est de 0,387 g / d à des températures d'imprégnation élevée de 80° C, de 0,372 g / d à 90° C et de 0,382 g / d à 97° C. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80°, 90° et 97° C concernant la tension de dévidage.

Les résultats présentés dans le Tableau III montrent que la température d'imprégnation élevée a aussi une influence significative sur la tension de dévidage. Il est intéressant de noter que lorsque la température d'imprégnation élevée augmente, la tension de dévidage augmente aussi de 7,84 %. On

attribue cela au fait que lorsque la différence entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation est inférieure, le ramollissement de la sérécine varie, ce qui entraîne une variation de la tension. Ainsi avec une faible température d'imprégnation de 60° C, il y a moins de tension de dévidage. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent une différence importante entre les faibles profils de températures de 60° C et 80° C concernant la tension de dévidage.

Le Tableau IV montre que lorsque la longue durée d'imprégnation augmente de 1 à 2 minutes, la tension de dévidage augmente de 14,1 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent aussi une différence importante pour la tension de dévidage. On attribue cela au ramollissement uniforme de la sérécine avec une longue durée d'imprégnation de 2 minutes, ce qui entraîne un meilleur ramollissement des points d'agglutination dans la coque soyeuse, ce qui entraîne un déroulement facile de la soie.

f. Pourcentage de déchets par rapport au poids de la soie :

Le Tableau I montre que le % de déchets par rapport au poids de la soie est influencé de manière importante par les températures d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation au seuil de 1 %, tandis que la longue durée d'imprégnation ne présente pas d'influence sur le pourcentage de déchets. Le facteur de contribution de la température d'imprégnation élevée et de la faible température d'imprégnation sur le % de déchets par rapport au poids de la soie est de respectivement 30,86 % et 18,47 %. On peut observer que l'augmentation de la température d'imprégnation élevée de 80° C à 90° C diminue les % de déchets par rapport au poids de la soie de 16,1 %, tandis que l'augmentation de la température d'imprégnation élevée de 90° C à une température d'ébullition augmente le pourcentage de déchets par rapport au poids de la soie de 22,8 % (Tableau II). Il se produit un ramollissement de la sérécine trop important dans les couches externes avec la température d'ébullition. On observe que la température d'imprégnation élevée de 90° C est tout à fait adaptée pour les cocons bivoltins concernant le % de déchets de soie par rapport au poids de la soie. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il existe une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80° à 97° C concernant le % de déchets par rapport au poids de la soie.

La faible température d'imprégnation entraîne une baisse du % de déchets par rapport au poids de la soie de 14,3 % lorsque la température baisse de 80° C à 60° C. On attribue cela au traitement non uniforme avec une faible température plus élevée car l'eau pénètre moins, ce qui entraîne plus de cassures et un purgeage répété qui augmente le pourcentage de déchets (Tableau III). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence significative entre les faibles températures de 80° et de 60° C concernant le % de déchets par rapport au poids de la soie.

g. Poids de la pélette :

Le Tableau ANOVA I montre que le poids de la pélette est très influencé par la température, la durée d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation au seuil de 1 %. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation pour le poids de la pélette sont de respectivement 2,1 % ; 23,2 % et 7 %. Le poids de la pélette diminue de 2,76 % lorsque la température d'imprégnation élevée passe de 80° C à 90° C, tandis qu'avec la température d'ébullition le poids de la pélette augmente de 2,84 % (Tableau II). Cela est dû au phénomène de succion à l'entrée qui affecte la pénétration de l'eau à une température d'ébullition, ce qui entraîne une augmentation du poids de la pélette à la température d'ébullition. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent aussi une différence importante pour le poids de la pélette avec les différents traitements de température d'imprégnation élevée.

Les résultats présentés dans le Tableau III montrent que la faible température d'imprégnation influence aussi considérablement le poids de la pélette. La faible température d'imprégnation entraîne une baisse du pourcentage de déchets par rapport au poids de la soie de 5,7 %, lorsque la température passe de 80° C à 60° C. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence significative entre les faibles températures d'imprégnation de 80° C et de 60° C concernant le poids de la pélette. On

attribue cela au traitement non uniforme des couches internes, qui entraîne une augmentation du poids de la pélette.

Le Tableau IV montre que lorsque la longue durée d'imprégnation passe de 1 à 2 minutes, le poids de la pélette diminue de 8,7 %, ce qui est dû au ramollissement uniforme des couches internes de la coque soyeuse avec une longue durée d'imprégnation de 2 minutes.

h. Perte de sérécine (%) :

Le Tableau ANOVA I montre que la dissolution de la sérécine pendant la cuisson est très influencée par la température d'imprégnation élevée et la longue durée d'imprégnation au seuil de 1 % tandis que pour la faible température d'imprégnation, c'est au seuil de 5 %. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation par rapport à la dissolution de la sérécine sont de respectivement 10,9 %, 12,6 % et 1,7 %. Les résultats présentés dans le Tableau II montrent qu'il existe une tendance à la baisse de la dissolution de sérécine de 14,4 % lorsque la température d'imprégnation élevée augmente de 80 à 90° C. Il est intéressant de noter qu'à 97° C, il se produit la dissolution maximum de sérécine en raison du trop grand ramollissement de la sérécine chez les cocons bivoltins japonais. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il existe une différence significative entre les températures d'imprégnation élevées concernant le pourcentage de dissolution de la sérécine.

Avec la faible température d'imprégnation, le pourcentage de dissolution de la sérécine diminue de 7,51 % lorsque la faible température d'imprégnation diminue de 80° C à 60° C, ce qui est attribué à la diminution de la différence de température entre le traitement de température d'imprégnation élevée et le traitement avec la faible température d'imprégnation (Tableau III). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent une différence significative entre les faibles températures d'imprégnation concernant le pourcentage de dissolution de la sérécine.

Le Tableau IV montre que la longue durée d'imprégnation diminue aussi le pourcentage de dissolution de la sérécine de 14,9 % lorsque la durée augmente de 1 à 2 minutes, ce qui est dû au ramollissement non uniforme de la sérécine avec un traitement d'1 minute, ce qui entraîne plus de casses des cocons pendant le processus de dévidage. Les valeurs C. D. au seuil de 5 % indiquent une différence importante entre les longues durées d'imprégnation concernant le pourcentage de dissolution de la sérécine.

i. Perte au décreusage du % de déchets de soie après cuisson complète :

Le Tableau I montre que la perte au décreusage des déchets de soie est très influencée par la température d'imprégnation élevée et la longue durée d'imprégnation au seuil de 1 %, tandis que la faible température d'imprégnation n'a pas une influence significative sur la perte au décreusage des déchets de soie. Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée et de la longue durée d'imprégnation sur la perte au décreusage des déchets de soie sont de 81,9 % et de 8,6 %. On peut observer que la perte au décreusage des déchets de soie est de 2,16 % plus élevée avec une température d'imprégnation élevée de 90° C. (Tableau II). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée concernant la perte au décreusage des déchets de soie. Il est intéressant de noter que la température d'ébullition donne une perte au décreusage plus faible en déchets de soie puisqu'il y a eu plus de dissolution de sérécine au cours du dévidage.

Le Tableau IV montre que la durée d'imprégnation élevée augmente aussi la perte au décreusage des déchets de soie de l'ordre de 7,38 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence très importante entre les longues durées d'imprégnation.

CONCLUSION

D'après cette étude, on déduit qu'avec la température et la durée de rouissage standards, la température et la durée de cuisson, le profil d'ajustement, la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation ont une influence significative sur les caractéristiques de dévidage suivantes à savoir sur l'efficacité au purgeage, le pourcentage de dévidabilité, le pourcentage de récupération de soie grège, la tension de dévidage, le % de déchets par rapport au poids de la soie, le poids de la pélette, le pourcentage de dissolution de sérécine et sur le pourcentage de perte au décreusage des déchets de soie. Le comportement des caractéristiques de dévidage sous des températures et des durées d'imprégnation importantes, de la faible température d'imprégnation révèle que la température d'imprégnation élevée de 90° C amollit la coque soyeuse de manière uniforme. Cependant, la température d'ébullition ramollit trop la sérécine et le phénomène de succion à l'entrée diminue la pénétration de l'eau, ce qui entraîne une performance de dévidage inférieure.

On constate que la faible température d'imprégnation de 60° C donne une meilleure performance de dévidage. La faible température d'imprégnation de 80° C ne donne pas de bons résultats à cause du mauvais ramollissement de la sérécine qui se produit en raison de la différence de température moins importante entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation. L'étude révèle que la température d'imprégnation élevée de 90° C avec une durée de 2 minutes suivie par une faible température d'imprégnation de 60° avec d'autres traitements de cuisson donnent les meilleurs résultats de dévidage avec les cocons bivoltins.

STUDIES ON BIVOLTINE COCOON COOKING : PART III. INFLUENCE OF PERMEATION TREATMENTS IN COOKING PROCESS ON QUALITY CHARACTERISTICS OF JAPANESE BIVOLTINE COCOONS

G. HARIRAJ^{1*}, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR¹

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, Bangalore – 68, India.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japan – 394.

The hot air dried Japanese bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) treated with different high permeation temperatures, high permeation durations and low permeation temperatures followed by standard cooking and adjustment process in pan system of cooking have been found to have a significant influence on quality characteristics i. e., neatness, cleanness, tenacity, elongation and degumming loss percentage of raw silk. However, the cooking conditions selected in the study did not show any significant influence on cohesion of raw silk. The study clearly indicates that, permeation temperatures and durations during complete cooking of cocoons in pan system effectively cook the cocoon shell, thus facilitating improved quality of raw silk from the hot air dried Japanese bivoltine cocoons. From the results it could be observed that the cocoon cooked using the retting temperature of 50° C for 2 minutes, high permeation temperature of 90° C for 2 minutes, low permeation temperature of 60° C for 1 minute, followed by the high permeation temperature of 95° C for 2 minutes duration and adjustment up to the temperature of 50° C yield better quality of raw silk.

Keywords : Bivoltine cocoons, retting, high permeation temperature, low permeation temperature, pan cooking, neatness, cleanness, degumming loss of silk.

INTRODUCTION

The selection of suitable cooking treatments, temperature and duration are of extreme importance since it decides of the reeling performance and quality of raw silk reeled. Shimazaki (1986) has reported that the quality of raw silk is greatly influenced by cocoon cooking, reeling and allied operations of raw silk production. He has observed that cleanness and neatness characteristics are improved by using suitable high permeation temperature profiles. Matsumoto (1984) reported the influence of drying temperatures on raw silk quality i.e. neatness and cleanness characteristics. Kinoshita *et al.*, (1979, 1973c) and Kinoshita and Tajima (1994) have optimised cooking methodology using multivariate analysis. They inferred that the raw silk quality characteristics showed a significant improvement depending on high permeation temperature profiles.

The available literature clearly confirms that cooking processes, improves the productivity and quality of raw silk. Hence, an attempt has been made, in the present work, to study the influence of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature with constant retting, cooking and adjustment treatments in respect of hot air dried Japanese bivoltine cocoons on quality characteristics.

* Author to whom correspondence may be addressed.

MATERIALS AND METHODS

Raw material:

Commercially available bivoltine cocoons (Kinshu × Showa race) reared in Japan have been used for the study.

Drying conditions:

The cocoons were dried in batch type hot air drier, following the temperature pattern of 115° C – 100° C – 85° C – 70° C – 60° C for a period of 5 hours. The degree of drying achieved was 40%.

Retting conditions:

The dried cocoons were taken in a cage and then retted at 50° C for 2 minutes in first pan of cooking.

Permeation conditions:

The retted cocoons were immediately treated at high permeation temperature of 80° C, 90° C and 97° C for 1 minute and 2 minutes duration in second pan of cooking followed by treatment at low permeation temperature of 60° C, 70° C and 80° C for 1 minute duration in third pan of pan system of cooking.

Cooking and adjustment conditions:

The permeated cocoons were transferred to the cooking pan wherein the cocoons are treated at 95° C for 2 minutes in order to cook the cocoons. After the cocoons were cooked, the cocoons were left in the same bath without steam supply for one minute to reduce the temperature from 95° to 93° C. Then a small quantity of water was added to the bath for one minute, to decrease the temperature from 93° to 90° C. The addition of water to the bath was increased gradually so that in a period of 4 minutes the temperature of water was reduced to 50° C. The cocoons were kept at the same temperature for one minute and then removed from the cooking bath for brushing. The total period of adjustment was thus 7 minutes and the cooking was carried in a pan system of cooking.

Water used:

Tap water having 6.7 pH, 66 ppm hardness, 32 ppm acidity and 46 ppm M-alkalinity was used for the study.

Brushing conditions:

The cooked cocoons were then brushed at 80° C in a mechanical brushing unit and then transferred to reeling basin for picking at 40° C.

Reeling conditions:

The 100 good cocoons were selected for conducting the reelability test and the test was conducted as per the procedure followed in cocoon testing houses, Japan [Takabayashi *et al.*, (1996)]. The cooked cocoons were then reeled on 3 ends of multiend reeling machine maintaining fixed number of cocoons to a reeling end. The temperature of reeling bath was maintained at 40° C and reeling speed at 100 m / min.

Quality assessment:

The raw silk reeled after reeling was assessed for quality characteristics. The testing was conducted as per International Silk Association (ISA) standards [Book of Standards (1952-68) and Raw silk (1995)]. Among the eleven characters used for grading of raw silk, five characters, i. e. neatness, cleanness, tenacity, elongation and cohesion were determined. The samples of raw silk

produced were also subjected to degumming loss test. The testing equipment i. e., seriplane tester (Okamoto, Seisakusho, Tokyo Sangyo consulting Inc., Japan), tensile tester (Instron company ltd, U.K.) and Duplan cohesion tester (Tokyo Sangyo Consulting Inc., Japan) were used for the study.

Data collected:

The quality data i.e., neatness, cleanness, tenacity, elongation and cohesion characteristics were observed after testing raw silk reeled with different combinations of treatments. The degumming loss of raw silk was obtained by treating the raw silk with sodium carbonate solution 0.5% for about 20 minutes at 92° C and the weight loss was observed. From the difference in weights of the sample the degumming loss of the raw silk was found. The data thus obtained were analysed statistically using SPSS package.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The analysis of variance results of quality characteristics of Japanese bivoltine cocoons are shown in Table I. The mean results of the quality characteristics of the Japanese bivoltine cocoons treated with different high permeation temperatures and durations are given in Tables II and IV. The mean quality characteristics results of the cocoons treated with different low permeation temperature are given in Table III.

1. Analysis of variance results after complete cooking treatments on quality characteristics:

The analysis of variance results given in Table I showed that significant difference exists among high permeation temperatures and duration and low permeation temperature, on quality characteristics i.e., neatness (%), cleanness (%), tenacity, elongation and degumming loss (%) of raw silk. From the results, it could be inferred that the permeation temperatures and duration are also the most significant factors, which improve the quality characteristics of Japanese bivoltine cocoons. The interactions between permeation temperatures and duration are also found to have a significant effect with many quality characteristics.

2. Effect of cooking treatments on quality characteristics:

a. Neatness percentage of raw silk:

Table I shows that neatness of raw silk percentage is significantly influenced by high permeation temperature at 1% level and low permeation temperature at 5% level and high permeation duration did not show any influence on neatness of raw silk of bivoltine cocoons. The contribution factor of high permeation temperature and low permeation temperature on neatness of raw silk are 8.84% and 2.41% respectively. It could be observed from Table II that the increase in high permeation temperature from 80° to 90° C increases the neatness of raw silk by 0.75%. The C. D. values at 5% level, indicate that a significant difference exists between the high permeation temperatures of 80° and 90° C, whereas between 90° C and boiling temperature no significant difference was observed with regard to neatness of raw silk.

The low permeation temperature showed an increase in the neatness of raw silk of the cocoons by 0.43%, as the low permeation temperature varied from 60° to 80° C, which is attributed to more water permeation inside the cocoon shell due to reduction in temperature difference between high permeation temperature and low permeation temperature (Table III). However, the C. D. values at 5% did not show any significant difference among the low permeation temperatures on neatness of raw silk of Japanese bivoltine cocoons.

Though the neatness is a racial characteristic to the extent of 80% as described by Shimazaki (1964), the study shows that proper cooking could improve the neatness characteristics of Japanese bivoltine cocoons.

Table I. Analysis of variance result of influence of permeation treatments on quality characteristics of Japanese bivoltine cocoons.**Tableau I. Résultats de l'analyse de variance concernant l'influence des traitements d'imprégnation sur les caractéristiques de qualité des cocons bivoltins Japonais bivoltins.**

Source	Mean sum of squares / Somme moyenne des carrés						
	Degree of Freedom	Neatness (%)	Cleanness (%)	Tenacity (g/d)	Elongation (%)	Cohesion (strokes)	Degumming loss of silk (%)
	Degré de liberté	Netteté (%)	Propreté (%)	Ténacité (%)	Allongement (g/d)	Cohésion (passages)	Perte au décreusage de la soie (%)
High permeation temperature <i>Température d'imprégnation élevée</i>	2	2.276**	448.0**	6.46×10^{-4}	0.816	20.167	3.69**
High permeation duration <i>Longue durée d'imprégnation</i>	1	8.167×10^{-2}	25.35**	3.75×10^{-3}	0.296	1.53**	
Low permeation temperature <i>Faible température d'imprégnation</i>	2	0.821*	212.7**	4.33×10^{-2} **	4.03**	2.722	0.83**
High permeation temperature × high permeation duration <i>Température d'imprégnation élevée × longue durée d'imprégnation</i>	2	0.145	22.74**	5.61×10^{-3} *	0.186	39.463	1.704**
High permeation duration × low permeation temperature <i>Longue durée d'imprégnation × faible température d'imprégnation</i>	2	3.886**	49.13**	2.48×10^{-2} **	0.166	6.907	2.319**
High permeation temperature × low permeation temperature <i>Température d'imprégnation élevée × faible température d'imprégnation</i>	4	2.812**	15.22**	7.257×10^{-3} **	0.238	15.889	2.932**
Interaction effect <i>Effet d'interaction</i>	4	2.411*	64.85**	1.82×10^{-3}	0.508	11.074	4.38**
Error / <i>Ecart</i>	36	0.277	1.111	1.09×10^{-3}	0.373	15.019	7.361×10^{-2}

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

Table II. Mean results of quality characteristics with reference to high permeation temperature during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau II. Résultats moyens concernant les caractéristiques de qualité selon la température d'imprégnation élevée pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins Japonais.

High permeation temperature	Neatness (%)	Cleanness (%)	Tenacity (g/d)	Elongation (%)	Cohesion (strokes)	Degumming loss of silk (%)
<i>Température d'imprégnation élevée</i>	<i>Netteté (%)</i>	<i>Propreté (%)</i>	<i>Ténacité (g/d)</i>	<i>Allongement (%)</i>	<i>Cohésion (passages)</i>	<i>Perte de soie au décreusage (%)</i>
80° C	95.05 (1.18)	80.61 (5.12)	3.93 (0.0693)	22.05 (0.64)	110.2 (3.25)	24.53 (0.89)
90° C	95.76 (0.62)	89.94 (2.96)	3.94 (0.0737)	22.03 (0.67)	112.1 (4.62)	24.76 (0.712)
97° C	95.48 (0.79)	89.28 (4.60)	3.95 (0.0577)	22.41 (0.79)	112.10 (3.47)	23.88 (1.11)
CD at 5%	0.60	1.19	0.037	0.69	4.39	0.31

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.*

b. Cleanness percentage of raw silk:

Table I shows that cleanness of raw silk is significantly influenced by high permeation temperature and high permeation duration at 5% level and low permeation temperature does not show any influence on cleanness of raw silk of bivoltine cocoons. The contribution factor of high permeation temperature and duration on cleanness of raw silk is 3.29% and 1.36% respectively. It could be observed from Table II that as the high permeation temperatures is increased, the cleanness of raw silk is also increased by 3.6%. It is interesting to note that, the drop in cleanness of raw silk is observed at boiling temperature to the extent of 1.26%, which is because at boiling temperature due to entry suction phenomenon the water entry is restricted and this causes sericin softening. The high permeation temperature of 90° C is observed to be quite suitable for bivoltine cocoons. The C. D. values at 5% indicate no significant difference exists between the high permeation temperatures of 80° and 90° C, with regard to cleanness of raw silk of the cocoons.

Table III shows an increase of 1.9% in the cleanness of raw silk, as the low permeation temperature varied from 60° C to 80° C, which is attributed to reduction in temperature difference between high permeation temperature and low permeation temperature. However, the C. D. values at 5% did not show any significant difference among the low permeation temperature on cleanness of raw silk of Japanese bivoltine cocoons. Table IV shows that as the high permeation duration increased from 1 minute to 2 minutes treatment, the cleanness of raw silk decreased by 1.9%, which is not significantly more as indicated by the C. D. values at 5% level.

Table III. Mean results of quality characteristics with reference to low permeation temperature during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.*Tableau III. Résultats moyens concernant les caractéristiques de qualité selon la faible température d'imprégnation pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins Japonais.*

Low permeation Temperature	Neatness (%)	Cleanness (%)	Tenacity (g/d)	Elongation (%)	Cohesion (Strokes)	Degumming loss of silk (%)
<i>Faible température d'imprégnation</i>	<i>Netteté (%)</i>	<i>Propreté (%)</i>	<i>Ténacité (g/d)</i>	<i>Allongement (%)</i>	<i>Cohésion (passages)</i>	<i>Perte de soie au décreusage (%)</i>
60° C	95.60 (0.78)	89.56 (4.37)	3.98 (0.0328)	21.96 (0.52)	111.7 (3.94)	24.59 (1.53)
70° C	95.49 (0.88)	87.44 (6.35)	3.95 (0.055)	22.70 (0.54)	111.0 (4.17)	24.42 (0.584)
80° C	95.19 (1.08)	82.83 (5.40)	3.88 (0.0376)	21.82 (0.74)	111.6 (3.62)	24.16 (0.425)
CD at 5%	0.60	1.19	0.037	0.69	4.39	0.31

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.*

c. Tenacity of raw silk:

The tenacity of raw silk is influenced by the high permeation temperature at 1% level whereas low permeation temperature and high permeation duration have an influence on it at 5% level (Table I). The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on tenacity of raw silk are 8.7%, 0.7% and 12.5% respectively. The results given in Table II show that the reeling tension is 3.88 g/d at 80° C, 3.89 g / d at 90° C and 3.84 g/d at 97° C high permeation temperatures. The C. D. values at 5% level indicate no significant difference between the high permeation temperatures with regard to tenacity of raw silk.

Table III shows that low permeation temperature influences also significantly the tenacity of raw silk. It is interesting to note that as the low permeation temperature increased, the tenacity of raw silk also reduced by 1.54%. The C. D. values at 5% show a significant difference in tenacity of raw silk between low permeation temperature of 60° and 80° C. This is attributed to the fact that as at higher low permeation temperature, the difference between high permeation temperature and low permeation temperature is less and hence softening of sericin varies resulting in tension variation. Thus at 60° C low permeation temperature more tenacity of raw silk is observed.

Table IV shows that as the high permeation duration is increased from 1 minute to 2 minutes, the tenacity of raw silk is 3.88 g/d and 3.86g/ d respectively. C. D values at 5% do not show a significant difference in tenacity of raw silk. This is attributed to the uniform softening of sericin during cooking treatments for 2 minutes, leading to better permeation of water into the cocoon shell.

Table IV. Mean results of quality characteristics with reference to high permeation duration during cooking process for Japanese bivoltine cocoons.

Tableau IV. Résultats moyens concernant les caractéristiques de qualité selon une durée d'imprégnation élevée pendant le processus de cuisson chez les cocons bivoltins Japonais.

High permeation Duration	Neatness (%)	Cleanness (%)	Tenacity (g/d)	Elongation (%)	Cohesion (strokes)	Degumming loss of silk (%)
<i>Longue durée d'imprégnation</i>	<i>Netteté (%)</i>	<i>Propreté (%)</i>	<i>Ténacité (g/d)</i>	<i>Allongement (%)</i>	<i>Cohésion (passages)</i>	<i>Perte de soie au décreusage (%)</i>
1 minute	95.39 (0.64)	85.93 (6.92)	3.95 (0.0767)	22.15 (0.66)	111.5 (3.78)	24.56 (0.789)
2 minutes	95.47 (1.15)	87.30 (5.04)	3.93 (0.0523)	22.17 (0.77)	111.4 (4.00)	24.22 (1.123)
CD at 5%	0.84	1.69	0.053	0.98	6.20	0.43

Values in the parenthesis are standard deviation values / *Les valeurs entre parenthèses sont les valeurs des écarts types.*

d. Elongation of raw silk:

The elongation of raw silk is also influenced by the high permeation temperature at 1% level and low permeation temperature at 5% level (ANOVA Table I). The contribution factor of high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature on elongation of raw silk are 6.9%, 0.8% and 4.0% respectively. Table II shows that the elongation is above 23% with all the high permeation temperatures. This indicates that complete cooking treatments maintain uniform tension during reeling resulting in more elongation of raw silk. However, the C. D. values at 5% level indicate no significant difference between the high permeation temperatures with regard to elongation. Similar trend was observed in case of low permeation temperature also on elongation of raw silk. Table IV shows that high permeation duration did not significantly influence elongation percentage. This is attributed to uniform softening of sericin during cooking process.

e. Cohesion of raw silk:

Cohesion of raw silk is significantly influenced by, low permeation temperatures at 5% level (Table I). The contribution factor of low permeation temperature on cohesion of raw silk is 15.1%. The low permeation temperature showed an increase in the cohesion of raw silk by 12.5% strokes, as the low permeation temperature is increased from 80° C to 60° C. This is attributed to uniform softening of sericin and binding due to proper water penetration in cooking treatment (Table III). However, the C. D. values at 5% do not show any significant difference between low permeation temperatures with regard to cohesion of raw silk.

f. Degumming loss of silk %:

The degumming loss of silk is significantly influenced by the high permeation temperature and high permeation duration at 1% level (Table I). The contribution factor of high permeation

temperature and high permeation duration on degumming loss of silk are 10.8% and 4.8% respectively. It could be observed that as the high permeation temperature increased from 80° C to 90° C, the degumming loss of silk was increased by 0.96%, whereas the increase in high permeation temperature from 90° C to boiling decreases the degumming loss percentage of raw silk by 2%, (Table II). The C. D. values at 5% level indicate that a significant difference exists between the high permeation temperatures of 90° C and boiling temperature with regard to degumming loss of silk.

Table IV shows that the high permeation duration also increased the degumming loss of silk slightly by 1.1%. The C. D. values at 5% do not show a significant difference between the high permeation durations.

CONCLUSION

Based on the above study, it is inferred that, at the standard retting temperature and duration, the cooking temperature and duration, adjustment profile, the high permeation temperature, high permeation duration and low permeation temperature has a significant influence on the following quality characteristics i.e., neatness (%), cleanness (%), tenacity, elongation and degumming loss percentage of silk, whereas it did not show much influence on cohesion characteristics. The study reveals that high permeation temperature of 90° C at 2 minutes duration followed by low permeation temperature of 60° C gives better quality raw silk from Japanese bivoltine cocoons used for the study.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors express their gratitude to Dr T. Nishide, Director, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japan, for his guidance in conducting the study. The thanks are due to staff of NISES, Okaya for their co-operation while conducting the study.

REFERENCES

- BOOK OF STANDARDS Standards manual of raw silk testing and classification.(1952-1968)
Published by International Silk Association, France, pp. 9-25.
- KINOSHITA H., WATESE H. SUGENUMA Y. (1979) Studies on the systemisation of cocoon cooking I. On the analysis of the reeling characteristics by multivariate analysis, The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol.48, No.5, pp. 404-410.
- KINOSHITA H., TAZIMA F., MIJAYIMA T., SIMADA M.(1993c) Studies on the systemisation of cocoon cooking – On the optimisation of cocoon cooking by the application of reeling tension of thread, The Journal of Silk Science Tech., Japan, Vol. 2, pp. 1-6.
- KINOSHITA H., TAJIMA F.(1994) Studies on the systemisation of cocoon cooking: On the soaking treatment and permeability of cocoon shell, The Journal of Silk Science Tech. Japan, Vol.3, pp. 7-11.
- MATSUMOTO T.(1984) Cocoon drying theory and practical, PhD thesis submitted to Tokyo University, Tokyo, Japan, pp. 1-123.
- RAW SILK 1995: Manual for testing, classifying, quality limits, grading, directives, methods, standards, instrumentation. (1995) Edited by study group of the silk standards committee, Published by International Silk Association, France, pp. 7-15.
- SHIMAZAKI A. Filature technology lecture, Published by Sericultural Association, Tokyo, (1964) 89.
- SHIMAZAKI A. (1986) Recent technology counter measures for avoiding yarn defects, Filature summer seminar – Report, Vol. 39, pp. 1-14.
- TAKABAYASHI C., KINOSHITA H., TSUBOUCHI K., TSUBOI H., WATANABE T., SHIMIZU S., HARIRAJ G., SUBHAS V. NAIK, MAHESH K. N. (1996) Manual on bivoltine silk reeling, Japan International Co-operation Agency, Bangalore, India, pp 1-12.

ETUDES SUR LA CUISSON DES COCONS BIVOLTINS : TROISIEME PARTIE. INFLUENCE DES TRAITEMENTS D'IMPREGNATION DANS LE PROCESSUS DE CUISSON SUR LES CARACTERISTIQUES DE QUALITE DES COCONS BIVOLTINS JAPONAIS

G. HARIRAJ¹*, HARUO KINOSHITA² & T. H. SOMASHEKAR¹

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, Bangalore – 68, Inde.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya, Japon –394.

On constate que le traitement des cocons bivoltins japonais (race Kinshu × Showa) séchés à l'air chaud avec différentes températures d'imprégnation élevées, longues durées d'imprégnation et faibles températures d'imprégnation suivies par une cuisson standard et un processus d'ajustement avec le système de cuisson à la bassine a une influence importante sur les caractéristiques de qualité, c'est à dire la netteté, la propreté, la ténacité, l'allongement et le pourcentage de perte au décreusage de la soie grège. Cependant, les conditions de cuisson sélectionnées dans l'étude n'ont pas d'influence significative sur la cohésion de la soie grège. L'étude indique clairement que les températures et les durées d'imprégnation pendant la cuisson complète des cocons avec le système à la bassine cuisent efficacement la coque soyeuse, ce qui améliore la qualité de la soie grège chez les cocons Japonais séchés à l'air chaud. D'après les résultats, on peut observer que la cuisson des cocons en utilisant la température de rouissage de 50° C pendant 2 minutes, la température d'imprégnation élevée de 90° C pendant 2 minutes, la faible température d'imprégnation de 60° C pendant 1 minute, suivies par une température d'imprégnation élevée de 95° C pendant une durée de 2 minutes et un ajustement jusqu'à une température de 50° C donne une meilleure qualité de soie grège.

INTRODUCTION

Le choix de traitements de cuisson, de température et de durée adaptés sont d'une importance primordiale puisqu'ils déterminent la performance de dévidage et la qualité de la soie grège dévidée. Shimazaki (1986) a constaté que la qualité de la soie grège est très influencée par la cuisson, par le dévidage du cocon et par les opérations associées à la production de soie grège. Il a observé que les caractéristiques de propreté et de netteté sont améliorées par l'utilisation de profils de température d'imprégnation élevée adaptés. Matsumoto (1984) a constaté que les températures de séchage ont une influence sur la qualité de la soie grège, c'est à dire sur les caractéristiques de netteté et de propreté. Kinoshita et coll., (1979, 1973c) et Kinoshita et Tajima (1994) ont optimisé la méthodologie de cuisson en utilisant l'analyse multivariée. Ils en ont déduit que les caractéristiques de qualité de la soie grège présentent une amélioration importante en fonction des profils de température d'imprégnation élevée.

La littérature disponible confirme clairement que les processus de cuisson améliorent la productivité et la qualité de la soie grège. Dans ce travail, nous avons donc essayé d'étudier l'influence de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation avec des traitements de rouissage, de cuisson et d'ajustement constants sur les caractéristiques de qualité chez les cocons bivoltins japonais séchés à l'air chaud.

MATERIELS ET METHODES

Matières premières :

Dans cette étude, on utilise des cocons bivoltins disponibles sur le plan commercial élevés au Japon (race Kinshu × Showa).

Conditions de séchage :

On sèche les cocons dans un séchoir à air chaud par lots, en suivant un profil de température de 115° C – 100° C – 85° C – 70° C – 60° C pendant une période de 5 heures. On atteint un degré de séchage de 40 %.

Conditions de rouissage :

On place les cocons séchés dans une cage puis on les rouit à 50° C pendant 2 minutes dans la première bassine de cuisson.

Conditions d'imprégnation :

Les cocons rouis sont immédiatement traités à une température d'imprégnation élevée de 80° C, 90° C ou de 97° C pendant une durée de 1 et 2 minutes dans la deuxième bassine de cuisson. Cette opération est suivie par un traitement à une faible température d'imprégnation de 60° C, 70° C ou 80° C pendant une durée d'1 minute dans la troisième bassine du système de cuisson à la bassine.

Conditions de cuisson et d'ajustement :

On transfère les cocons imprégnés dans une bassine de cuisson où on traite les cocons à 95° C pendant 2 minutes de manière à cuire les cocons. Après la cuisson des cocons, on laisse les cocons dans le même bain sans apport de vapeur pendant une minute pour diminuer la température de 95° à 93° C. Puis on ajoute une petite quantité d'eau au bain pendant une minute pour diminuer la température de 93° à 90° C. On ajoute progressivement de l'eau au bain de sorte qu'en une période de 4 minutes, la température de l'eau diminue à 50° C. On conserve les cocons à la même température pendant une minute puis on les retire du bain de cuisson pour les purger. La période totale d'ajustement dure 7 minutes et la cuisson est effectuée à la bassine.

Eau utilisée :

Dans l'étude, on utilise de l'eau du robinet avec un pH de 6,7, une dureté de 66 ppm, une acidité de 32 ppm et une alcalinité-M de 46 ppm.

Conditions de purgeage :

On purge les cocons cuits à 80° C dans une unité de purgeage mécanique et on les transfère ensuite dans une bassine de dévidage pour les tirer à 40°C.

Conditions de dévidage :

On sélectionne 100 bons cocons pour réaliser le test de dévidabilité et on réalise le test d'après la procédure suivie dans les lieux de test des cocons au Japon [Takabayashi et coll., (1996)]. Puis on dévide les cocons cuits sur 3 bouts d'une bassine de dévidage multibouts en maintenant un nombre fixe de cocons sur un bout. On maintient la température du bain de dévidage à 40° C et une vitesse de dévidage de 100 m / min.

Evaluation de la qualité :

On évalue les caractéristiques de qualité de la soie grège dévidée après le dévidage. On procède au test d'après les normes de l'Association Internationale de la Soie (AIS) [Book of Standards (1952-68) and Raw Silk (1995)]. Parmi les onze caractères utilisés pour classer la soie, on détermine

cinq caractères, c'est à dire la netteté, la propreté, la ténacité, l'allongement et la cohésion. On soumet aussi les échantillons de soie grège produits au test de perte au décreusage. On utilise dans l'étude les équipements de test suivants : un testeur sériplane (Okamoto, Seisakusho, Tokyo Sangyo consulting Inc., Japon) un testeur de résistance (Instron company Ltd, U. K.) et un testeur de cohésion Duplan (Tokyo Sangyo Consulting Inc., Japon).

Données recueillies :

On enregistre les données qualitatives c'est à dire les caractéristiques de netteté, de propreté, de ténacité, d'allongement et de cohésion après le test de dévidage de la soie grège avec différentes combinaisons de traitement. On obtient la perte au décreusage de la soie grège en traitant la soie grège avec une solution de carbonate de sodium à 0,5 % pendant environ 20 minutes à 92° C et on observe la perte de poids. On obtient la perte au décreusage de la soie grège d'après les différences de poids de l'échantillon. On utilise les données ainsi obtenues sur le plan statistique en utilisant le système SPSS .

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats de l'analyse de variance concernant les caractéristiques de qualité des cocons bivoltins Japonais sont présentés dans le Tableau I. Les résultats moyens concernant les caractéristiques de qualité des cocons bivoltins Japonais traités avec différentes températures et durées d'imprégnation élevées sont présentés dans les Tableaux II et IV. Les résultats moyens concernant les caractéristiques de qualité des cocons traités avec différentes températures d'imprégnation faibles sont présentés dans le Tableau III.

1. Résultats concernant l'analyse de variance après les traitements de cuisson complets sur les caractéristiques de qualité :

Les résultats concernant l'analyse de variance présentés dans le Tableau I montrent qu'il existe une différence importante entre les températures et les durées d'imprégnation élevées et la faible température d'imprégnation concernant les caractéristiques de qualité, c'est à dire la netteté (%), la propreté (%), la ténacité, l'allongement et la perte au décreusage (%) de la soie grège. D'après les résultats, on peut en déduire que les températures et la durée d'imprégnation sont aussi les facteurs les plus significatifs qui améliorent les caractéristiques de qualité des cocons bivoltins Japonais. Il s'avère que les interactions entre les températures et la durée d'imprégnation ont aussi un effet significatif sur de nombreuses caractéristiques de qualité.

2. Effet des traitements de cuisson sur les caractéristiques de qualité :

a. Pourcentage de netteté de la soie grège :

Le Tableau I montre que le pourcentage de netteté de la soie grège est très influencé par la température d'imprégnation élevée au seuil de 1 % et par la faible température d'imprégnation au seuil de 5 % et la longue durée d'imprégnation n'a pas d'influence sur la netteté de la soie grège des cocons bivoltins. Le facteur de contribution de la température d'imprégnation élevée et de la faible température d'imprégnation sur la netteté de la soie grège est respectivement de 8,84 % et de 2,41 %. On peut observer d'après le Tableau II que l'augmentation de la température d'imprégnation élevée de 80° à 90° C augmente la netteté de la soie grège de 0,75 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent qu'il existe une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 80° et de 90° C tandis qu'entre 90° C et la température d'ébullition, on n'observe pas de différence importante concernant la netteté de la soie grège.

La faible température d'imprégnation entraîne une augmentation de la soie grège des cocons de 0,43 % lorsque la faible température d'imprégnation varie de 60° à 80° C, ce que l'on attribue à une plus grande pénétration de l'eau à l'intérieur de la coque soyeuse en raison de la moindre différence

de température entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation (Tableau III). Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % ne présentent pas de différence significative pour les faibles températures d'imprégnation sur la netteté de la soie grège chez les cocons bivoltins Japonais.

Bien que la netteté soit une caractéristique génétique pour 80 % comme l'a décrit Shimazaki (1964), l'étude montre qu'une cuisson correcte peut améliorer les caractéristiques de netteté des cocons bivoltins Japonais.

b. Pourcentage de propreté de la soie grège :

Le Tableau I montre que la propreté de la soie grège est très influencée par la température d'imprégnation élevée et la longue durée d'imprégnation au seuil de 5 % et la faible température d'imprégnation n'a pas d'influence sur la propreté de la soie grège des cocons bivoltins. Les facteurs de contribution de la température et de la durée d'imprégnation élevées sur la propreté de la soie grège sont de respectivement 3,29 % et 1,36 %. On peut observer d'après le Tableau II qu'alors que les températures d'imprégnation élevées augmentent, la propreté de la soie grège augmente aussi de 3,6 %. Il est intéressant de noter qu'on observe une baisse de la propreté de la soie grège de l'ordre de 1,26 % avec une température d'ébullition parce qu'avec la température d'ébullition, en raison du phénomène de succion, l'entrée d'eau est restreinte et cela entraîne l'amollissement de la séricine. On observe que la température d'imprégnation élevée de 90° C est tout à fait adaptée pour les cocons bivoltins. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent qu'il n'existe aucune différence importante entre les températures d'imprégnation élevées de 80° et 90° C pour la propreté de la soie grège des cocons.

Le Tableau III montre une augmentation de la propreté de la soie grège de 1,9 % lorsque la faible température d'imprégnation varie de 60° à 80° C, ce qui est attribué à la diminution de la différence de température entre la température d'imprégnation élevée et la faible température d'imprégnation. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % ne présentent pas de différence importante pour la faible température d'imprégnation concernant la propreté de la soie grège des cocons bivoltins Japonais. Le Tableau IV montre que lorsque la longue durée d'imprégnation passe de 1 à 2 minutes, la propreté de la soie grège diminue de 1,9 %, ce qui n'est pas significativement plus comme l'indiquent les valeurs D. C. au seuil de 5 %.

c. Ténacité de la soie grège :

La ténacité de la soie grège est influencée par la température d'imprégnation élevée au seuil de 1 % tandis que la faible température d'imprégnation et la longue durée d'imprégnation ont une influence sur elle au seuil de 5 % (Tableau I). Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur la ténacité de la soie grège sont de respectivement 8,7 % ; 0,7 % et 12,5 %. Les résultats présentés dans le Tableau II montrent que la tension de dévidage est de 3,88 g / d avec des températures d'imprégnation élevée de 80° C, de 3,89 g / d à 90° C et de 3,84 g / d à 97° C. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % n'indiquent pas de différence importante entre les températures d'imprégnation élevée concernant la ténacité de la soie grège.

Le Tableau III montre que la faible température d'imprégnation influence aussi considérablement la ténacité de la soie grège. Il est intéressant de noter qu'alors que la faible température d'imprégnation augmente, la ténacité de la soie grège diminue aussi de 1,54 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % montrent une différence significative de la ténacité de la soie grège entre la faible température d'imprégnation de 60° et de 80° C. Cela vient du fait qu'avec une faible température d'imprégnation plus élevée, la différence entre la température d'imprégnation élevée et la faible température est plus faible et le ramollissement de la séricine varie, ce qui entraîne des variations de tension. Ainsi, avec une faible température d'imprégnation de 60° C, on observe une ténacité plus forte de la soie grège.

Le Tableau IV montre qu'alors que la durée d'imprégnation passe de 1 à 2 minutes, la ténacité de la soie grège est de respectivement 3,88 g / d et de 3,86 g / d. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % ne

présentent pas une différence significative pour la ténacité de la soie grège. On attribue cela au ramollissement uniforme de la sérécine pendant les traitements de cuisson de 2 minutes ce qui entraîne une meilleure pénétration de l'eau dans la coque soyeuse.

d. Allongement de la soie grège :

L'allongement de la soie grège est très influencé par la température d'imprégnation élevée au seuil de 1 % (Tableau ANOVA I). Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée, de la longue durée d'imprégnation et de la faible température d'imprégnation sur l'allongement de la soie grège sont de respectivement 6,9 %, 0,8 % et 4 %. Le Tableau II montre que l'allongement est supérieur à 23 % avec toutes les températures d'imprégnation élevée. Cela indique que les traitements de cuisson complets maintiennent une tension uniforme pendant le dévidage, ce qui entraîne un plus grand allongement de la soie grège. Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % n'indiquent pas de différence significative entre les températures d'imprégnation élevée concernant l'allongement. On observe une tendance similaire concernant l'influence de la faible température d'imprégnation sur l'allongement de la soie grège. Le Tableau IV montre que la longue durée d'imprégnation n'exerce pas une influence importante sur le pourcentage d'allongement. On attribue cela au ramollissement uniforme de la sérécine pendant le processus de cuisson.

e. Cohésion de la soie grège :

La cohésion de la soie grège est très influencée par les faibles températures d'imprégnation au seuil de 5 % (Tableau I). Le facteur de contribution de la faible température d'imprégnation sur la cohésion de la soie grège est de 15,1 %. La faible température d'imprégnation entraîne une augmentation de la cohésion de la soie grège de 12,5 % passages, lorsque la faible température d'imprégnation augmente de 80° C à 60° C. On attribue cela au ramollissement de la sérécine et à la liaison uniformes grâce à la pénétration correcte de l'eau pendant le traitement de cuisson (Tableau III). Cependant, les valeurs D. C. au seuil de 5 % ne présentent pas de différence significative entre les faibles températures d'imprégnation concernant la cohésion de la soie grège.

f. Pourcentage de perte au décreusage de la soie :

La perte au décreusage de la soie est très influencée par la température d'imprégnation élevée et la longue durée d'imprégnation au seuil de 1 % (Tableau I). Les facteurs de contribution de la température d'imprégnation élevée et de la longue durée d'imprégnation sur la perte au décreusage de la soie sont respectivement de 10,8 % et 4,8 %. On peut observer qu'alors que la température d'imprégnation élevée augmente de 80° C à 90° C, la perte au décreusage de la soie augmente de 0,96 % tandis que l'augmentation de la température d'imprégnation élevée de 90° C à la température d'ébullition diminue le pourcentage de perte au décreusage de la soie grège de 2 % (Tableau II). Les valeurs D. C. au seuil de 5 % indiquent qu'il existe une différence importante entre les températures d'imprégnation élevée de 90° C et la température d'ébullition concernant la perte au décreusage de la soie.

Le Tableau IV montre que la longue durée d'imprégnation augmente aussi légèrement la perte au décreusage de la soie de 1,1 %. Les valeurs D. C. au seuil de 5 % n'indiquent pas une différence significative entre les durées d'imprégnation élevées.

CONCLUSION

D'après cette étude, on déduit que la température et la durée de rouissage avec une durée, une température de cuisson et un profil d'ajustement standards, la température d'imprégnation élevée, la longue durée d'imprégnation et la faible température d'imprégnation standards ont une influence importante sur les caractéristiques de qualité suivantes c'est à dire la netteté (%), la propreté (%), la ténacité, l'allongement et le pourcentage de perte au décreusage de la soie, tandis qu'ils n'ont pas

beaucoup d'influence sur les caractéristiques de cohésion. L'étude révèle que la température d'imprégnation élevée de 90° C pendant une durée de 2 minutes suivie par une faible température de 60° C donne une meilleure qualité de soie grège chez les cocons bivoltins japonais utilisés dans l'étude.

INDUCED JUVENILE ROOTING ABILITY INTO ADULTS FROM SEEDLING IN *TERMINALIA ARJUNA**

R. KUMAR, GARGI, M. C. JOSHI, A. GANGOPADHYAY & B. R. R. P. SINHA

Plant Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute,
Ranchi - 835303, India.

Terminalia arjuna is a perennial tree and propagation of elite "plus" trees through cuttings is not possible. Rooting in this species depends much more on the age (juvenility) of the mother plants rather than on the mechanical barrier. Present communication deals with the induction of juvenile rooting ability from seedling to adult through grafting for the first time. The technique will help in clonal multiplication of elite trees.

Keywords: *Terminalia*, rooting, grafting, juvenile.

INTRODUCTION

In plants where rooting is difficult, the age of the stock plants is a very important factor. Almost always stem cuttings taken from young seedling plants (juvenile growth phase) root much more readily than those taken from older plants (adult growth phase). Transmission of juvenile rooting ability from seedlings to adult forms has been reported in other horticultural crops using grafting technique (Gardner 1929, Muzik and Cruzado 1958, Hartmann and Kester, 1976 and Yadav and Goswami 1993). *Terminalia arjuna* is a woody perennial and multipurpose tree. Besides its medicinal value, the foliage is used as primary food for tasar silkworm *Antheraea mylitta*. Propagation through cuttings taken from trees is not successful in this species. Present paper deals with the induction of juvenility by grafting adult forms into juvenile form (young seedlings) in this species for the first time.

MATERIAL AND METHODS

A 15 year old "plus" tree of *T. arjuna* grown in the field gene bank of Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, was selected for the present study. Two-year old seedlings grown in polytubes (20 × 10 cm) containing rooting media composed by Farm Yard Manure (FYM) and Sand in 2:1 ratio were used as rootstock. Approach grafts were made during February-March 2001 when the growth of both, the scion ("plus" tree cuttings) and stock is active. Selection of scion was made from one year old branches. The diameter of selected scion and seedling was almost similar (2.5 to 3 cm) in order to obtain better grafting union. At the point, where the union was to occur, a slice of bark and wood, 5-6 cm long was cut from both the stems. These cut surfaces were bound tightly together with translucent polythene strip. The stock plants were held at the level of scion branch with the help of a plastic string. In all, 10 grafts were made. After the union of both the parts, stock above and scion below the union were cut and the grafts were transferred in earthen pots containing a mixture of Sand: Soil: FYM in 1: 1: 1 ratio. These pots were kept in a green house for further growth. In the following rainy season (August 2002) 50 soft wooded cuttings (comprising 1st, 2nd and 3rd node) were taken from the plants raised through grafting and "plus tree" (as control). These cuttings were put in sterile sand filled polybags of 20 × 10 cm size to root. These tubes were kept in sub soil pits of 2 × 1

* Present communication is part of selection and breeding program being carried out in primary food plants of Tasar Silkworm at this Institute.

× 1 m size and covered with transparent polythene sheets. Humidity inside the pits was maintained ($80 \pm 2\%$) by regular sprinkling of water. Transverse sections from 5 cuttings each of control and grafted plants were made. The fresh sections were stained in safranin and fast green combination. The excess stain from the sections was removed by washing them in distilled water. Temporary slides were made by mounting the sections in glycerine. The slides were observed in 45×10 magnification in binocular research microscope. The thickness of sclerenchymatous and collenchymatous tissues was measured with the help of calibrated ocular micrometer. In all observations from 25 microscopic fields (five from each slide) were made and standard deviation was calculated from the pooled data.

RESULTS AND DISCUSSION

A complete union between the grafts made was observed within 32 ± 4 days in all the grafts. All the grafts survived after transplanting in the pots. Initiation of the rooting in the cuttings taken from the grafted plants was observed on 25th day after planting in polytubes. In all, $80 \pm 3.5\%$ of the total cuttings showed induction of rooting. The average length of the roots was 17 ± 1.5 cm after 60 days of initial planting. There was no induction of rooting in control cuttings. Total thickness of sclerenchymatous and collenchymatous tissues in the cuttings taken from grafted plants and plus tree was 390 ± 2 and 406 ± 3 μm respectively. Palton *et al.*, have attributed the juvenility factor in induction of rooting in *Eucalyptus* cultivars. According to them, juvenility in relation to rooting may possibly be explained by the increased production of rooting inhibitors as the plant grows older. In easily rooted young seedling stems this inhibitor was absent as it was absent in adult stem tissue of the easily rooted *Eucalyptus deglupta*. High rooting (86.6%) in juvenile cuttings taken from young seedlings of *Terminalia arjuna* has also been reported earlier by Sinha *et al.*, (2001). According to them, juvenile cuttings root easily as compared to the similar cuttings taken from grown up trees. This was attributed by them to the presence of a four times thicker layer of hard tissues in the same categories of cuttings taken from mature trees and young seedlings respectively. However, the present investigation clearly demonstrates that the induction of rooting in cuttings in this species depends much on juvenility of the plants than to the presence of a mechanical barrier. This was further corroborated by the fact that the thickness of hypodermal tissues in both types of cuttings was almost the same. This technique will be highly rewarding in multiplication of elite genotypes in this species.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial assistance under National Agricultural Technology Project, ICAR, New Delhi is thankfully acknowledged.

REFERENCES

- GARDNER F. E. (1929) The relationship between tree age and rooting of cuttings. Proc Ame. Soc. Hort. Sci. 26, 101.
- HARTMANN H. T., KESTER D. E. (1976) Plant propagation principles and practices. Prantice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi, 240 pp.
- MUZIK T. J., CRUZADO H. J. (1958) Transmission of juvenile rooting ability from seedlings to adults in *Hevea brasiliensis*. Nature, 181, 1288.
- PALTON D. M., WILLING R. R., NICHOLS W. & PRYORL D. (1970) Rooting of stem cuttings of *Eucalyptus*; a rooting inhibitor in adult tissues. Austr. Jour. Bot. 18, 175–183.
- SINHA P. S., JOSHI M. C., BECK S., KHARE R., GANGOPADHYAY A., SINHA A. K., SINHA B. R. R. P. & THANGAVELU K. (2001) Identification and tackling the factor hindering the regeneration of *Terminalia arjuna* (Bedd.) through cuttings. A breakthrough. Sericologia 41(2), 291-295.
- YADAV G. S., GOSWAMI B. C. (1993) Why do some cuttings fail to root. Indian Silk 8, 37-44.

CAPACITE DE RACINEMENT JUVENILE INDUITE CHEZ DES ADULTES A PARTIR DE PLANTULES DE *TERMINALIA ARJUNA**

R. KUMAR, GARGI M. C. JOSHI, A. GANGOPADHYAY & B. R. R. P. SINHA

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

Terminalia arjuna est un arbre pérenne et il n'est pas possible de multiplier les arbres supérieurs de bonne qualité par bouturage. Chez cette espèce, le racinement dépend bien plus de l'âge (jeunesse) des plants mères que de la barrière mécanique. Cet article traite pour la première fois de l'induction de la capacité de racinement juvénile à partir de plantules grâce au greffage. Grâce à cette technique la multiplication clonale d'arbres supérieurs devient possible.

INTRODUCTION

Chez les plants où le racinement est difficile, l'âge de la plante mère est un facteur très important. La plupart du temps, les boutures de tige prises sur de jeunes plantules (phase de croissance juvénile) racinent beaucoup plus facilement que celles prises sur des plants plus âgés (phase de croissance adulte). On a rapporté la transmission de la capacité de racinement juvénile des plantules aux formes adultes chez d'autres cultures horticoles en utilisant la technique de greffage (Gardner, 1929, Muzik et Cruzado, 1958, Hartmann et Kester, 1976 et Yadav et Goswami, 1993). *Terminalia arjuna* est un arbre vivace ligneux qui a des utilisations variées. En plus de sa valeur sur le plan médicinal, son feuillage est utilisé comme nourriture primaire pour le ver à soie tasar *Antheraea mylitta*. La multiplication à partir de boutures prises sur des arbres n'est pas possible chez cette espèce. Cet article présente pour la première fois chez cette espèce l'induction de juvénilité en greffant des formes adultes sous une forme juvénile (jeunes plantules).

MATERIELS ET METHODES

Pour cette étude, on sélectionne un arbre supérieur de "*T. arjuna*" de 15 ans dans la banque génétique de terrain du *Central Tasar Research and Training Institute* de Ranchi. On utilise des plantules de deux ans cultivées dans des sacs de polyéthylène (20 × 10 cm) contenant un milieu de racinement composé de fumure (FYM) et de sable dans un rapport 2 : 1 comme source de racines. On procède aux greffes d'approche en février – mars 2001 quand la croissance à la fois du greffon (boutures d'arbre supérieur) et du porte-greffe est active. On procède à la sélection du greffon sur des branches d'un an. Le diamètre du greffon sélectionné et de la plantule est presque similaire (2,5 à 3 cm) de manière à obtenir une meilleure union de greffage. A l'endroit de l'union, on coupe un morceau d'écorce et de bois de 5 à 6 cm de long sur les deux tiges. On lie étroitement ensemble ces surfaces au niveau de la coupure avec du ruban adhésif transparent. Les plantes mères sont maintenues

* Cet article fait partie d'un programme de lignage et de sélection réalisé sur des plantes nourricières du ver à soie tasar dans cet Institut.

au niveau de la branche du greffon à l'aide d'une ficelle en plastique. En tout, on réalise 10 greffes. Après l'union des deux parties, on coupe le porte-greffe et le greffon au-dessus et en dessous de l'union et on transfère les greffes dans des pots en terre contenant un mélange de sable : de sol et de FYM dans un rapport 1 : 1 : 1. On conserve ces sacs dans une serre pour leur croissance ultérieure. La saison des pluies suivante (août 2002) on prend 50 boutures de bois tendre (comprenant le 1^{er}, le 2^{ème} et le 3^{ème} nœud) sur les plants cultivés par greffage et sur les "arbres supérieurs" (témoins). On place ces boutures dans des sacs en plastique de 20 × 10 cm remplis de sable stérile pour qu'elles racinent. On conserve ces sacs sous le sol dans des trous de 2 × 1 × 1 m et on les recouvre avec des feuilles de polyéthylène transparent. On maintient l'humidité ($80 \pm 2\%$) dans les trous en vaporisant régulièrement de l'eau. On procède à des coupes transversales sur 5 boutures chez le témoin et chez les plants greffés. On colore les sections fraîches dans une combinaison de safranine et de fast green. On enlève l'excès de colorant sur les coupes en les lavant dans de l'eau distillée. On réalise des lames temporaires en montant les coupes dans de la glycérine. On observe les lames de verre avec un microscope binoculaire au grossissement de 45×10 . On mesure l'épaisseur des tissus sclérenchymateux et collenchymateux à l'aide d'un micromètre oculaire calibré. En tout, on procède à des observations de 25 champs microscopiques (cinq de chaque lamelle) et on calcule l'écart type à partir des données regroupées.

RESULTATS ET DISCUSSION

On observe une union complète entre les greffes réalisées en l'espace de 32 ± 4 jours chez toutes les greffes. Toutes les greffes survivent après la transplantation dans les pots. On observe le début du racinement des boutures prises sur les plants greffés, au bout du 25^{ème} jour après les avoir plantés dans les sacs en polyéthylène. En tout, $80 \pm 3,5\%$ de l'ensemble des boutures présentent une induction de racinement. La longueur moyenne des racines est de $17 \pm 1,5$ cm au bout de 60 jours après le début des plantations. Il n'y a pas d'induction du racinement chez les boutures témoins. L'épaisseur totale des tissus sclérenchymateux et collenchymateux des boutures prises sur les plants greffés et sur les arbres supérieurs est respectivement de 390 ± 2 et de 406 ± 3 μm . Palton et coll., ont attribué l'induction du racinement chez les cultivars d'*Eucalyptus* au facteur de la jeunesse. Selon eux, la relation entre la jeunesse et le racinement pourrait probablement s'expliquer par l'augmentation de la production d'inhibiteurs du racinement lorsque la plante vieillit. Chez les tiges des jeunes plantules qui racinent facilement, cet inhibiteur est absent comme il est absent du tissu de la tige adulte d'*Eucalyptus deglupta* qui racine facilement. Sinha et coll. (2001), ont aussi rapporté le racinement élevé (86,6 %) de boutures juvéniles prises sur de jeunes plantules de *Terminalia arjuna*. Selon eux, les boutures juvéniles racinent facilement par comparaison aux boutures similaires prises sur des arbres adultes. Ils attribuent cela à la présence d'une couche quatre fois plus épaisse de tissus durs chez les mêmes catégories de boutures prises respectivement sur des arbres matures et sur de jeunes plantules. Cependant, cette étude montre clairement que chez cette espèce l'induction du racinement des boutures dépend plus de la jeunesse des plants que de la présence d'une barrière mécanique. Le fait que l'épaisseur des tissus hypodermiques chez les deux types de boutures est presque la même confirme cela. Cette technique s'avère très intéressante pour multiplier des génotypes supérieurs chez cette espèce.

INDUCED FLOWERING IN *TERMINALIA ARJUNA*

R. KUMAR, GARGI, M. C. JOSHI, RAM KUMAR, V. KULSHREHTHA &
B. R. R. P. SINHA

Plant breeding and Genetics Lab., Central Tasar Research and Training Institute, Nagri,
Ranchi 835 303. India

Terminalia arjuna advances towards flowering condition with age and a minimum age of 7-8 years must be achieved before flowering can occur. Grafting of a 7 years non flowering scion onto a 2 year old juvenile stock induced the flowering in the plant. The present investigation indicates that the flowering in this species is associated with some stimulus provided by the photoperiodically induced leaves to the apical meristem where morphological changes occur and flower initiation takes place.

Keywords: *Terminalia*, Grafting, Meristem, Flowering, Stimulus

INTRODUCTION

Terminalia arjuna is a primary food plant of tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. It is a monoecious species and a minimum age of 7-8 years must be achieved before flowering can occur. The inability of juvenile plants to flower may well be a consequence of insufficient development of the terminal meristem (Heslop-Harrison and Heslop-Harrison, 1979). Studies of this nature form a prerequisite for effective breeding programme as flowering provides the plant with the mechanism for genetic out crossing. So far, no attempt has been made to study the mechanism of flowering in this genus. The present investigation deals with the induction of flowering by grafting of a scion from 7-year-old non-flowering tree onto a 2 year old juvenile stock.

MATERIAL AND METHODS

Seven-year-old, three non-flowering genotypes grown in the field of Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi were selected for the present study. Two-year-old seedlings grown in polytubes (20 × 10 cm) were used as rootstock. Approach grafts were made during February-March 2001 when the growth of both, the scion (genotype) and stock (seedlings) was active. One year old five branches of uniform thickness (2.5 to 3.0 cm) were selected from each genotype which was used as scion. The diameter of selected scion and seedling was almost similar for a better grafting union between stock and scion. At the point, where the union was to occur, a slice of bark and wood, 5-6 cm long was cut from both the stems. These cut surfaces were bound tightly together with translucent polythene strip. The stock seedlings were held at the level of scion branch with the help of a plastic string. In all 15 grafts (5 in each genotype) were made. After the union of the parts, stock above and scion below the union were cut and the grafts were transferred in the green house. Four grafts of each genotype were transferred in the field under 150 × 240 cm spacing during August 2001.

RESULTS AND DISCUSSION

A complete union between the grafts made was observed within 35 ± 3 days in all the genotypes. All the grafts survived after transplanting in the field gene bank. Flowering was recorded in all the

three genotypes during April 2002 i.e. after one year of transplanting in the field and still continuing. The number of spikes/plant varied from 25 to 30 as compared to normal plants where it was 32. The number of flowers /spike ranged between 32 ± 1.5 to 35 ± 1.5 in all the genotypes grafted including the normal plants. The pollen viability in induced flowers ranged between 90 ± 1.2 to 91 ± 1.5 % as checked by acetocarmine and Alexander's staining (1969) method.

Table I. Details of induced flowering in *Terminalia*

Tableau I. Précisions sur la floraison induite chez *Terminalia*.

Accession No.	No. of spikes / plant	No. of flowers/ spike	Pollen viability (%)
<i>No. de la variété</i>	<i>Nbre d'épis / plante</i>	<i>Nbre de fleurs / épis</i>	<i>Viabilité du pollen (%)</i>
22	25	32 ± 1.5	90 ± 1.2
23	26	34 ± 2.0	88 ± 0.9
IC 355553	30	35 ± 1.5	91 ± 1.5
Normal Plant / <i>Plant normal</i>	32	34 ± 1.9	89 ± 2.5

Emasculated flowers of other genotypes dusted with these pollen grains formed normal seeds confirming the fertility of the pollen from induced flowers. *Terminalia arjuna* advances toward the flowering condition with age and the arrival at the reproductive state is apparently unalterably set. This suggests that some internal factors/ stimulus are associated for flower initiation (Leopold and Kriedmann, 1975). This stimulus in all probability moves from the leaves to the meristem where the morphological change is initiated that culminates into the flowering. Grafting experiment indicates that photoperiodically induced leaves supply a mobile stimulus to the meristem, where the morphological change is initiated in the form of flowering. Similar results were obtained by Cajlachjan (1965) in his various grafting experiments where both the components were in vegetative state. Detailed investigations involving several genotypes are under progress to understand the exact mechanism involved in this process. This technique will help breeders to shorten the gestation period of flowering in this genus.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial assistance under NATP (PB) from ICAR, New Delhi is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- ALEXANDER M.P. (1969). Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Tech.* 44: 117-122.
- CAJLACHJAN M.C. (1965). Flowering in graft hybrids with both components in vegetative state. *C.R.Dokl. Akad.Nauk.SSSR.* 159: 1421-1424.
- HESLOP-HARRISON J., HESLOP-HARRISON Y. (1979). The state of the apex and the response to induction of *Cannabis sativa*. Cellular and molecular aspects of floral induction. Ed G. Bernier. Longman Group Ltd. London: 3-26.
- LEOPOLD A.C., KRIEDEMANN P.E. (1975). Plant growth and development. Tata Mc Graw Hill. Publishing Company. New Delhi. 272 pp.

INDUCTION DE LA FLORAISON CHEZ *TERMINALIA ARJUNA*

R. KUMAR, GARGI, M. C. GOSHI, RAM KUMAR, V. KULSHRETHA
& B. R. R. P. SINHA

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

Les conditions de la floraison chez Terminalia arjuna s'installent avec la durée et il faut un âge minimum de 7 à 8 ans avant que la floraison ne se produise. Le greffage d'un greffon de 7 ans sans floraison sur un porte-greffe juvénile de deux ans induit la floraison chez la plante. Cette étude indique que la floraison chez cette espèce est associée avec une stimulation apportée par l'induction photopériodique des feuilles et du méristème apical où apparaissent les changements morphologiques et le démarrage de la floraison.

INTRODUCTION

Terminalia arjuna est une plante nourricière primaire du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D. C'est une espèce monoïque dont l'âge minimum pour la floraison est de 7 à 8 ans. L'incapacité des plantes juvéniles à fleurir pourrait être la conséquence du développement insuffisant du méristème terminal (Heslop-Harrison et Heslop-Harrison, 1979). Les études de cette nature sont nécessaires pour réussir les programmes de lignage puisque la floraison apporte à la plante le mécanisme de l'allofécondation génétique. Cette étude traite de l'induction de la floraison par le greffage d'un greffon provenant d'un arbre de 7 ans ne fleurissant pas sur un porte-greffe juvénile de deux ans.

MATERIELS ET METHODES

Trois génotypes de sept ans sans floraison cultivés au *Central Tasar Research and Training Institute* de Nagri à Ranchi ont été sélectionnés pour cette étude. On utilise des plantules de deux ans cultivées dans des polytubes (20 × 10 cm) comme racines. On a réalisé les greffons d'approche en février – mars 2001 quand la croissance à la fois du greffon (génotype) et du porte-greffe (plantule) est active. On sélectionne cinq branches d'un an d'une épaisseur uniforme (2,5 à 3 cm) de chaque génotype que l'on utilise comme greffons. Les diamètres du greffon et de la plantule sélectionnés sont similaires pour une meilleure union entre le porte-greffe et le greffon. A l'endroit où l'union doit avoir lieu, on coupe un morceau d'écorce et de bois de 5 à 6 cm de long sur les deux tiges. On attache étroitement ensemble ces surfaces coupées avec du ruban adhésif transparent. On maintient les plantules porte-greffes au niveau de la branche du greffon à l'aide d'une ficelle en plastique. On effectue 15 greffes au total (5 de chaque génotype). Après l'union des parties, on coupe le porte-greffe et le greffon au-dessous et au-dessus de l'union et on transfère les greffes dans une serre. Quatre greffes de chaque génotype ont été transférées sur le terrain avec un espacement de 150 × 240 cm au cours du mois d'août 2001.

RESULTATS ET DISCUSSION

On observe une union complète entre les greffes réalisées en l'espace de 35 ± 3 jours chez tous les génotypes. Toutes les greffes survivent après la transplantation sur le terrain. On a enregistré une floraison chez les trois génotypes en avril 2002 c'est à dire un an après la transplantation sur le terrain et elle se poursuit. Le nombre d'épis / plant varie de 25 à 30 par comparaison aux plants normaux où il est de 32. Le nombre de fleurs / plante est compris entre $32 \pm 1,5$ et $35 \pm 1,5$ chez tous les génotypes greffés y compris chez les plants normaux. La viabilité du pollen chez les fleurs induites est comprise entre $90 \pm 1,2$ et $91 \pm 1,5$ % d'après la vérification par les méthodes de coloration à l'acétocarmin et d'Alexander (1969).

Les fleurs émasculées des autres génotypes saupoudrées avec ces grains de pollen forment des graines normales, ce qui confirme la fertilité du pollen provenant des fleurs induites. *Terminalia arjuna* progresse vers la floraison avec l'âge et l'arrivée au stade reproductif est apparemment fixée de manière inaltérable. Cela suggère que certains facteurs / stimulations internes sont associés avec la floraison de la fleur (Leopold et Kriedmann, 1975). Cette stimulation se déplace probablement des feuilles au méristème où le changement morphologique commence et se termine par la floraison. L'expérience de greffage indique que les feuilles induites par la photopériode apportent une stimulation au méristème où le changement morphologique commence sous la forme de la floraison. Cajlachjan (1965) a obtenu des résultats similaires dans ses expériences de greffage variées où les deux composants se trouvaient à l'état végétatif. Des études impliquant plusieurs génotypes sont en cours de réalisation pour comprendre le mécanisme exact impliqué dans ce processus. Cette technique permettra aux sélectionneurs de raccourcir la période de gestation de la floraison chez ce genre.

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.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux, soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.

- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.

- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 x 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés à part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés à part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés à part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

