

Journal of Silkworms

Revue des Vers à Soie

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

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

COMITE DE REDACTION
EDITORIAL BOARD

BEAULATON J. (France)
BOSQUET G. (France)
CANTO FONSECA T. (Brésil/Brazil)
CHIANG Y-L. (Chine/China)
COUBLE P. (France)
DATTA R.K. (Inde/India)
DOIRA H. (Japon/Japan)
FOURCHE J. (France)
FUKUDA T. (Japon/Japan)
GOLDSMITH M.R. (USA)
HAZAMA K. (Japon/Japan)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde/India)
KOBAYASHI M. (Japon/Japan)

KRISHNASWAMY S. (Inde/India)
LEGAY J-M. (France)
LIU S-X. (Chine/China)
LU H-S. (Chine/China)
MANO Y. (Japon/Japan)
NARASIMHANNA M.N. (Inde)
OHNISHI E. (Japon/Japon)
PRUDHOMME J-C. (France)
REALI G. (Italie/Italy)
SHIMURA K. (Japon/Japan)
SONWALKAR T.N. (Inde/India)
TAKAHASHI R. (Brésil/Brazil)
TAZIMA Y. (Japon/Japan)
VAGO C. (France)

Secrétariat et Documentation
C. PERCEVEAUX - N. LORIOT

TESTICULAR DEVELOPMENT AND SPERMATOGENESIS IN THE LARVA, PUPA AND ADULT ERI SILKWORM, *PHILOSAMIA RICINI* - A HISTOLOGICAL STUDY.

H.K. HURKADLI*, M.A. HOOLI and V.B. NADKARNI * Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India. Department of Zoology, Karnatak University, Dharwad 580 003, India.

A pair of testes becomes visible on the first day of fourth instar larva. The individuality of each testis is maintained through out life history. The testicular size gradually increases and reaches its maximum on the last day of pupation. Each testis is enclosed in peritoneal sheath. Beneath the peritoneal sheath there is an epithelial layer which divides the testis into four follicles by forming the partitioning septa. Each follicle contains cells at different developmental stages of spermatogenesis. Apical cells are not seen in the adult testis. The spermatids and spermatozoan bundles appear in the testicular lumen from fifth day of pupation onwards. The adult testis contains both eupyrene and apyrene spermatozoan bundles.

INTRODUCTION

The structure of testis and the process of spermatogenesis have been reported in a number of species of insect. Callahan and Cascio (1963), Swart (1966), Joubert (1967) and Brits (1978) have described the morphology and histology of male reproductive organs in a few species of lepidoptera. The process of spermatogenesis has been described in the cynthia silkworm, *Philosamia cynthia* (Kambysellis and Williams, 1971a, 1972), *Bombyx mori* (Mac Farlane and Tsao, 1974), *Drosophila melanogaster* (Kuroda, 1974; Cross and Shellenberger, 1979), gypsy moth, *Porthetria dispar* (Salama, 1976), *Drosophila hydei* (Rungger, 1976), *Euproctis chrysorrhoea* (Leclercq-Smekens, 1978a), *Heliothis virescens* (Loeb et al., 1985). In recent years some aspects of spermatogenesis in insects have been reviewed (Moses, 1970; Phillips, 1970; Blum, 1970; Adiyodi and Adiyodi, 1974 and Dumser, 1980). The present investigation was undertaken to study the histological structure of the testis of *Philosamia ricini* during larval, pupal and adult stages.

MATERIALS AND METHODS

Eri silkworm, *Philosamia ricini* reared in the laboratory were used in the present work. For histological study the animals were killed, the testis from 1st day of 4th instar larva upto the last day of pupation (i.e. 17th day), on every alternate day and of adults before and after mating were fixed in Bouin's fluid for 20-25 hours, embedded in paraffin wax and 4 μ m sections were cut and stained with haematoxylin and eosin and mounted in U camparol. In the present study, the length and width of the testis and height of the follicle epithelium in m have been measured in ten specimens during 4th and 5th larval, pupal and adult stages to find out the changes in size of the testis and height of the follicle epithelium. The average measurement of ten readings are given in Graph 1. The development of different spermatogenic stages such as 1. spermatogonia, 2. primary spermatocytes, 3. secondary spermatocytes, 4. spermatids and 5. sperm bundles was also investigated microscopically to record

the number of these different spermatogenic stages present in each slide of testis in the larval, pupal and adult stages. The method followed in the present work is similar to that described by Salama (1976) for the testis of gypsy moth, *P. dispar*. The average number of these different spermatogenic stages calculated and the percentage of these stages is given in Graph 2.

RESULTS AND DISCUSSION

A pair of distinct testes embedded in the fat bodies, was located on either side along the anteroposterior axis of the animal.

Each testis consists of four follicles and is enclosed in a layer of connective tissue sheath or peritoneal sheath. The wall of the testis consists of outer peritoneal sheath and an inner epithelial sheath or follicle epithelium. Peritoneal sheath is composed of one or two layers of irregularly spaced small cells, with round or spherical nuclei each containing distinct nucleolus. It is the epithelial sheath which surrounds each follicle and also forms the partitioning septa of the follicle (Fig. 1). All the four follicles are completely separated from each other by the septa. An apical cells complex consisting of four to six large sized cells is seen close to the inner border of the epithelium in the follicles. Each cell contains a large volume of cytoplasm and a small round nucleus with a distinct nucleolus. Groups of spermatogonial cells surrounded by a cyst wall are seen at the border of the apical cells towards the lumen. Spermatogoneal cells are round/polygonal with dense cytoplasm. Some cysts contain a few small sized round cells, each with a small eccentrically placed nucleus and eosinophilic cytoplasm. These cells seem to be degenerating spermatogonial cells. The size of the testis continues to increase during 4th and 5th larval instar, during pupal period and reaches its maximum size on the last day of pupation. Similarly the height of the follicle epithelium continues to increase during 4th and 5th larval instars and reaches its maximum on the first day of pupation and from then onwards the height gradually decreases and reaches its minimum on the last day of pupation. The size of the testis in adults before mating is slightly decreased when compared to that of the last day pupa and the size is further decreased in the adults after mating (Graph 1).

The apical region or the zone of germarium of the testis, follicles contains spermatogonial cysts and the next region, the zone of growth, contains spermatogonial cells undergoing mitotic division within the cysts. The spermatogonial cells in the cyst, in the next region begin to arrange on the cyst wall, as a result the space or atrium begins to appear in the centre of the cyst and thus spermatogonial cysts begin to form the primary spermatocytes in the testis of late 5th instar larva (Fig. 2).

The testicular components during first three days of pupation are similar to those of 5th instar larva excepting the difference in the percentage of spermatogonial cells, primary and secondary spermatocytes. From the 5th day of pupation and onwards, the secondary spermatocytes begin to transform into spermatids which transform into spermatozoan bundle (Fig. 3). The spermatids and spermatozoan bundles are enclosed in the cyst wall. During the pupal period the height of the peritoneal sheath is decreased whereas that of the follicle epithelium is increased. The apical cells complex is not seen in the adults. The partitioning septa of the follicles do not rupture and persist even in the adults and the individuality of each follicle maintained (Fig. 3).

The percentage of spermatogonial cells, primary and secondary spermatocytes, spermatids and spermatozoan bundles in the testis during larval, pupal and adult stages is given in Graph 2.

The testis in the adults contain large number of eupyrene and a few apyrene spermatozoan bundles and other spermatogenic components are few in numbers. The testis wall mainly consists of fibrous connective tissue strands with flattened cells (Fig. 4). The testis of the adults after mating, contains mostly spermatozoan bundles and a few spermatids (Fig. 5).

The identification of the testis during different larval instars differs in different species of lepidoptera (Leclercq-Smekens, 1978a; Brits, 1978). In the present investigation the testes in *P. ricini* were detected in the 4th instar larva. The testes of *P. ricini* do not fuse to form a single testis as in other lepidoptera and remain separated as paired structures as in saturniid moths (Shepherd, 1974). Each testis consists of four follicles and in this respect they are similar to the testis of the larvae of other lepidoptera.

The increase in the size of the testes during larval instars has been reported in few species of lepidoptera (Alexander and Chippendale, 1973; Brits, 1978). The increase in the volume is correlated

with the rate of spermatogenesis. Salama (1976) has reported that increase in the volume of the testis during larval and early pupal stage and then gradually decrease in old pupa followed by moth stage. He has correlated the decrease in the volume of the testis in the pupal stage to the migration of sperms into efferent ducts. Phillips (1970) has stated that the rapid increase in the testicular volume is due to the rapid growth rate of spermatogonia. The observation in the present investigation in *P. ricini* suggest that the size of the testis increases gradually and reaches its maximum only on the last day of pupation. This observation suggest that the spermatogonial products i.e. spermatozoan bundles are retained in the lumen of the testis and not yet released into vas deferens. The size of the testis decreases in the adult moths before mating. This observations may suggest that some of the spermatozoan bundles are transferred to the vas deferens and hence the decrease in the size of the testis.

Salama (1976) has reported that the four follicles of each testis of *P. dispar* are covered by an outer membrana communis and inner epithelial sheath. The testicular wall is lined externally by *tunica externa* and internally by *tunica interna*. The *capsula lobuli* is a layer of connective tissue, which along with *tunica interna* forms the follicular septa that divides testis into four follicles, similar to those of *Bombyx mori* (Omura, 1936). The testicular wall of *P. ricini* in general is similar to that described for *P. dispar* (Salama, 1976), *P. operculella* (Brits, 1978) and *E. chrysorrhea* (Leclercq-Smekens, 1978a). The peritoneal sheath of the testis of *P. ricini* corresponds to membrana communis of *P. dispar*. The testes of *P. ricini* are not fused to form a single testis in any of its development and the follicular septa of testis are retained intact even in the adults.

The testicular tubule in the apical region has an apical cell or versorial cell at the apex of the germarium, spermatogonia in the germinal region and the cyst cells, enveloping the spermatogonial cells (Snodgrass, 1935; Salama, 1976; Leclercq-Smekens, 1978a; Hardy et al., 1979). In the present investigation the apical region of the testicular follicles of larva and pupa of *P. ricini* contained spermatogonial cyst enclosed in cyst cells and apical cells. The cyst containing small round cells with eccentrically placed solid nuclei and eosinophilic cytoplasm were observed in the growth zone. The cysts containing such cells probably represents the degenerating spermatogonial cells and disappears before they reach spermatid zone. The degeneration of germ cells has been reported in the testis of insects (Alexander and Chippendale, 1973; Dumser, 1980). Brits (1978) has reported that the testicular follicles of larva of *P. operculella* contain spermatogonia surrounded by the cyst cells. The apical cells in testis of *P. ricini* occur in groups as in *P. dispar* and *E. chrysorrhea*.

Complete spermatogenesis takes place during larval and pupal life in insects having short life span (Sado, 1963; Tazima, 1964). The germ cells in the testicular follicles are in different stages of development in the larval, pupal and adult stages of the insects. Shen and Berryman (1967) have reported that the mature spermatozoan are found shortly after pupation in *R. buoliana*. Salama (1976) has reported that in the first larval instars of *P. dispar*, only the spermatogonial cells are found, the primary spermatocytes appear in the fourth larval instar and the spermatids and spermatozoa are formed during the fifth larval instar, prepupal and pupal stages. Leclercq-Smekens (1978a) has reported that in *E. chrysorrhea* spermatogenesis is completed before the adult stage is reached. Brits (1979) has shown that the testes of the larva of *P. operculella* contain spermatogonia, spermatocytes and spermatids in the first, second and third larval instar respectively. The testes of the fourth instar larva contain spermatozoan bundles and other earlier spermatogenic stages. The testis of the pupa and adult contains mainly spermatids and sperms. In the present investigation in the testis of *P. ricini* the spermatogonial cells are found in the fourth instar larva, primary and secondary spermatocytes, spermatids and sperm bundle appear from the seventh day of pupation onwards till the last day of pupation and also found in the testis of adult. From the present study it is quite evident that the occurrence of various spermatogenic stages differ from species to species and that the spermatogenesis is completed before the adult stage is reached since this adult moth is short lived and begins to mate soon after emergence.

The production of eupyrene and apyrene spermatozoa has been reported in the lepidopteran species of insects (Salama, 1976; Katsuno, 1977). Holt and North (1970) have shown in cabbage looper, *Trichoplusia ni* that the apyrene spermatozoa are transferred to the female in the first mating during which the transfer of sperms may not be successful. This might mean that the eupyrene spermatozoa are not wasted in the first mating. This might be an adaptation to short lived adult life in lepidoptera. The present investigation shows that *P. ricini* produces both eupyrene and apyrene

Fig. 1. L.S. of late 5th instar larva of *P. ricini*, showing peritoneal sheath (PES), epithelium (E), germarium (G), spermatogoneal cysts (SPC), primary spermatocytes (PSC), secondary spermatocytes (SSC), and a partitioning septum (PS).

Fig. 1. Microphotographie de la larve de P. ricini à la fin du 5ème âge montrant la gaine péritonéale (PES), l'épithélium (E), le germarium (G), les vésicules spermatogoniales (SPC), les spermatocytes primaires (PSC), les spermatocytes secondaires (SSC), et un septum séparateur (PS).

Fig. 2. L.S. of the testis of 5th day pupa of *P. ricini* showing spermatogoneal cysts (SPC), primary spermatocytes (PSC), secondary spermatocytes (SSC), spermatids (S), spermatozoan bundle (SB)

Fig. 2. Microphotographie du testicule de la nymphe de P. ricini au 5ème jour montrant les vésicules spermatogoniales (SPC), les spermatocytes primaires (PSC), les spermatocytes secondaires (SSC), les spermatides (S), les faisceaux de spermatozoïdes (SB).

Fig. 3. L.S. of the testis of 7th day pupa of *P. ricini* showing primary spermatocytes (PSC), secondary spermatocytes (SSC), secondary spermatocytes transforming into spermatids (arrow), and spermatozoan bundle (SB).

Fig. 3. Microphotographie du testicule de la nymphe de P. ricini au 7ème jour montrant les spermatocytes primaires (PSC), les spermatocytes secondaires (SSC), les spermatocytes secondaires en cours de transformation en spermatides (flèche), et les faisceaux de spermatozoïdes (SB).

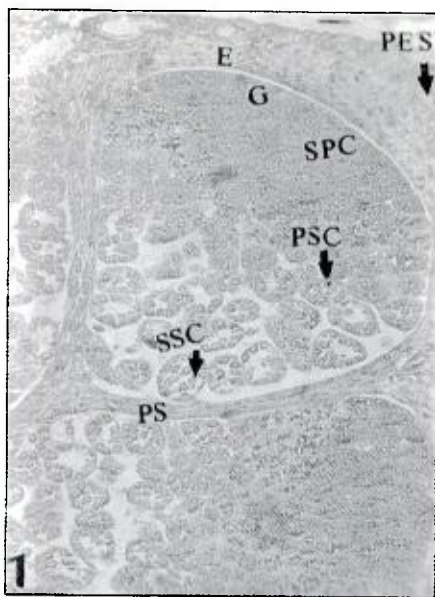
Fig. 4. L.S. of the testis of adult *P. ricini* before mating, showing spermatogoneal cysts (SPC), degenerating spermatogoneal cysts (DSPC), spermatocytes (SC), spermatids (S) and spermatozoan bundle (SB).

Fig. 4. Microphotographie du testicule du papillon de P. ricini avant l'accouplement montrant les vésicules spermatogoniales (SPC), les vésicules spermatogoniales en dégénérescence (DSPC), les spermatocytes (SC), les spermatides (S) et les faisceaux de spermatozoïdes (SB).

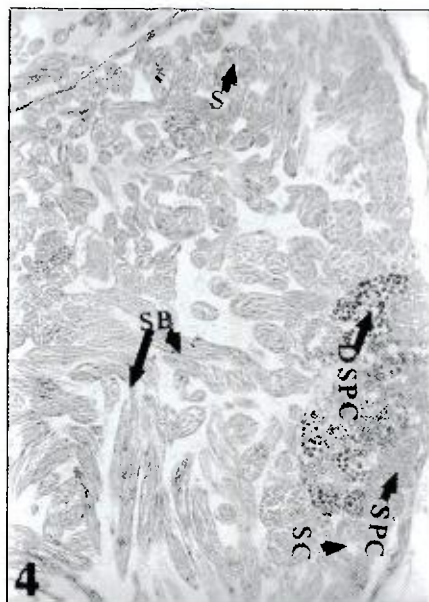
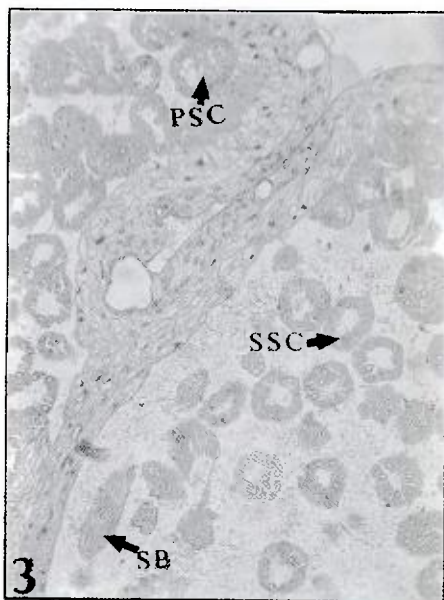
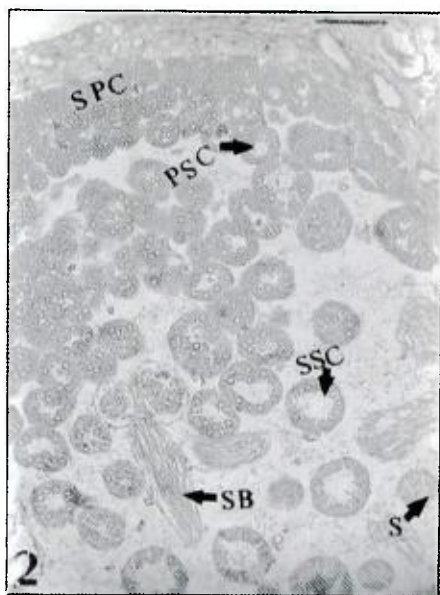
Fig. 5. L.S. of the testis of adult *P. ricini* after mating, showing spermatids (S) and spermatozoan bundles (SB).

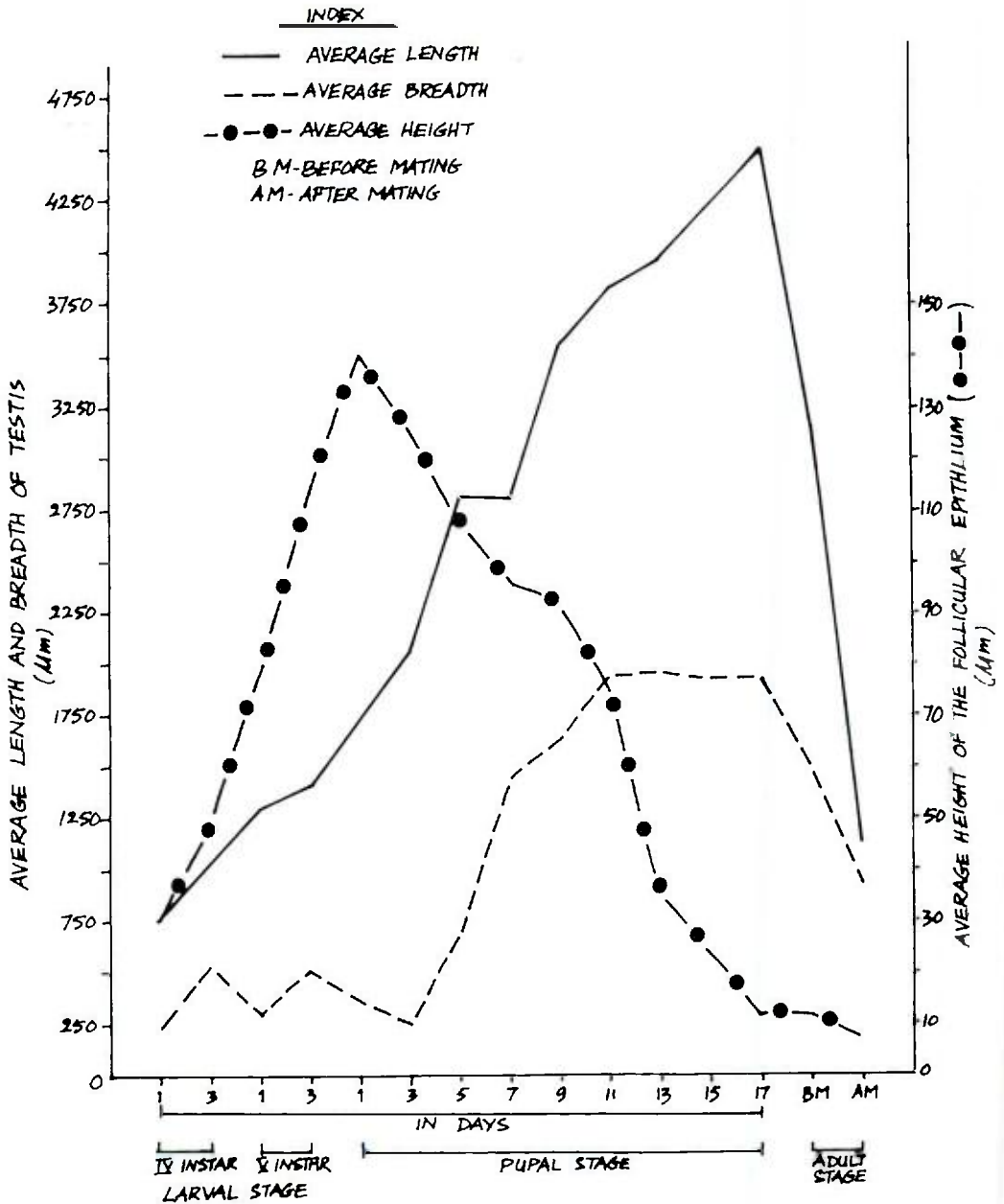
Fig. 5. Microphotographie du testicule du papillon de P. ricini après l'accouplement montrant les spermatides (S) et les faisceaux de spermatozoïdes (SB).

The scale lines in the photomicrophotographs indicate 40 μm . / L'échelle sur les microphotographies indique 40 μm .



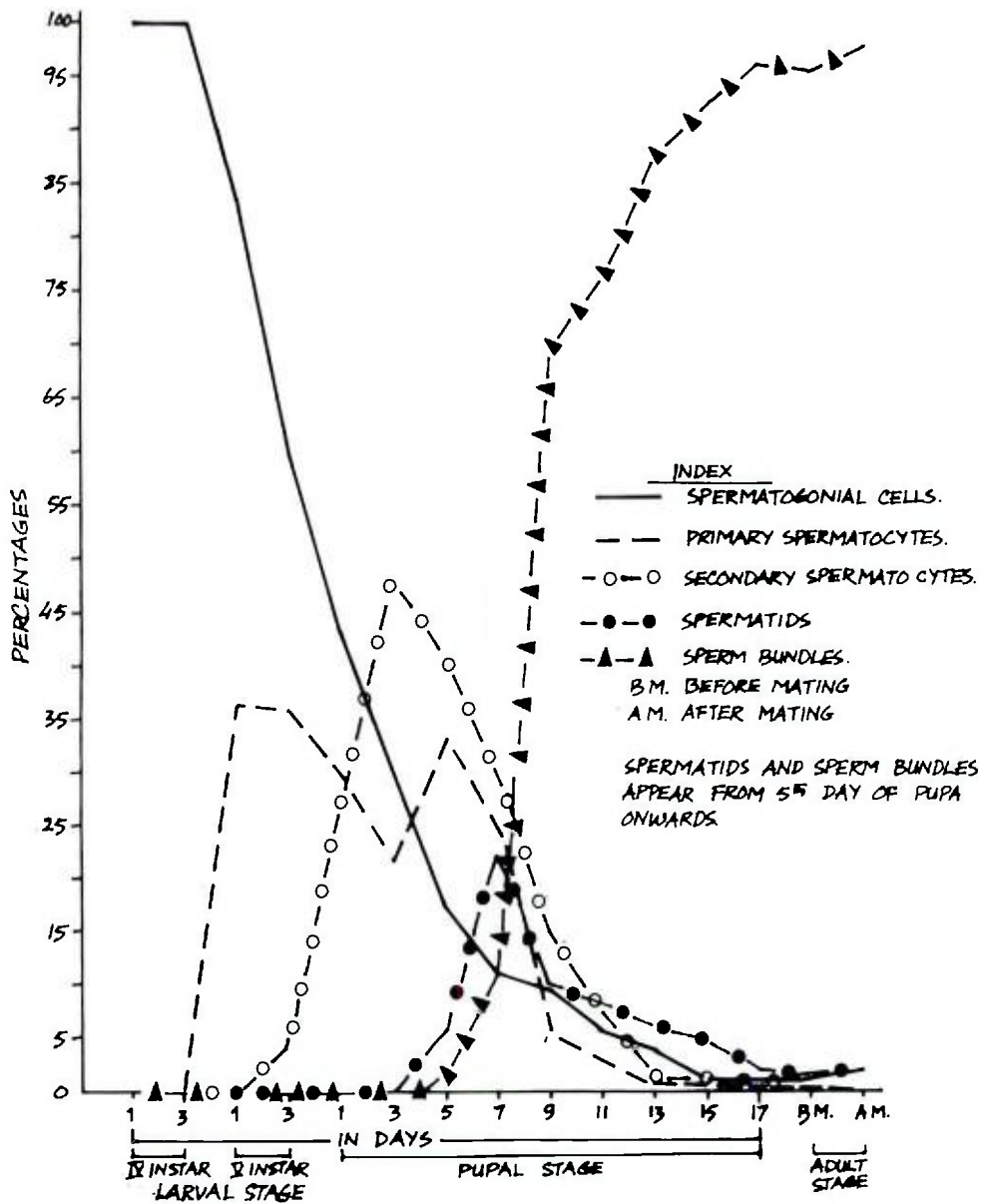
H.K. HURKADLI





Graph 1. Average size of the testis and average height of the follicular epithelium in developmental stages of *Philosamia ricini*.

Graphique 1. Taille moyenne du testicule et épaisseur moyenne de l'épithélium folliculaire au cours des différents stades du développement chez *Philosamia ricini*.



Graph. 2. Percentage of spermatogenic stages in the testis of larva, pupa and adult *Philosamia ricini*.

Graphique 2. Pourcentage des différents stades de la spermatogénèse chez le testicule de la larve, de la nymphe et de l'adulte de *Philosamia ricini*.

spermatozoan bundles. It has been observed that during first ejaculation apyrene spermatozoan bundles are transferred to the female. Subsequently after twenty five minutes, in the second ejaculation the eupyrene spermatozoa are transferred to the female. Thus eupyrene spermatozoa without being wasted helps in fertilization of maximum number of eggs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the University Grant Commission of India for the award of Senior fellowship to one of us (H.K.H.).

REFERENCES

- ADIYODIK.G., ADIYODIR.G. (1974) Comparative physiology of reproduction in arthropods. *Adv. Comp. Physiol. Biochem.*, 5, 37-107.
- ALEXANDER B.R., CHIPPENDALE G.M. (1973) Spermatogenesis of South Western corn borer, *Diatraea grandiosella*. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 66, 747-768.
- BLUM M.S. (1978) Invertebrate testis. In: "The Testis" (Johanson, A.D., Gomes W.R. and Vandemark N.L., eds.), Academic Press, New York, London, Vol. II, 393-431.
- BRITS J.A. (1978) The structure and physiology of male reproductive system of phthorimaea operculella (Zeller) (Lep.: Gelechiidae). *J. Entomol. Soc. South Afr.*, 41(20), 285-296.
- CALLHAN P.C., CASCIO T. (1963) Histology of the reproductive tracts and transmission of sperm in the corn ear worm, *Heliothis zea*. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 56, 535-556.
- CROSS D.P., SHELLNBARGER D.L. (1979) The dynamics of *Drosophila melanogaster* spermatogenesis in vitro cultures. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 53, 345-351.
- DUMSER J.B. (1980) The regulation of spermatogenesis in insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 25, 341-369.
- HOLT G.C., NORTH D.T. (1970) Spermatogenesis in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 63, 502-507.
- JOUBERT P.C. (1967) Reproduction in the pyralididae (Lepidoptera). I. Post-embryonic development and structure of the male reproductive systems of *Cadra cautella* and *Plodia interpunctella*. *S. Afr. J. Agric. Sci.*, 10, 707-722.
- KAMBYSELLIS M.P., WILLIAMS C.M. (1971a) In vitro development of insect tissues. I. A macromolecular factor prerequisite for silkworm spermatogenesis. *Biol. Bull.*, 141, 527-540.
- KAMBYSELLIS M.P., WILLIAMS C.M. (1972) Spermatogenesis in cultured testes of the cynthia silkworm. Effects of ecdysone and prothoracic glands. *Science*, 175, 769-770.
- KATSUNO S. (1977) Studies on eupyrene and apyrene spermatozoa in silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). II. The testicular behaviour of the spermatozoa after emergence. *Appl. Entomol. Zool.*, 12(3), 236-240.
- KURODA Y. (1974) Spermatogenesis in pharate adult testis of *Drosophila* in tissue culture without ecdysone. *J. Insect Physiol.*, 20, 637-640.
- LECLERCQ-SMEKENS M. (1978a) Reproduction d'*Euproctis chrysorrhoea* L. (Lepidoptera : Lymantriidae). I. Etude de l'organogenèse des testicules et de la spermatogenèse. *Bull. Cl. Acad. R. Belg., 5e Ser.*, 65(5), 306-317.
- LOEB M.J., BRANDT E.P., MASLER E.P. (1985) Modulation of rate of spermatogenesis by central nervous system of the tobacco bud worm, *Heliothis virescens*. *Int. J. Invert. Repro. and Dev.*, 8(1), 39-49.
- MAC FARLANE J.H., TASO C.H. (1974) Spermatophore formation and sperm transfer in silkworm, *Bombyx mori* L. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 67(5), 759-761.
- MENON M. (1968) Structure of apical cells of testis of the tenebrionid beetles: *Tenebrio molitor* and *Zophobas rugipes*. *J. Morphol.*, 409-430.
- OMURA S. (1936) Studies of the reproductive system of the male *Bombyx mori*. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, 38, 153-230.

- PHILLIPS D.M. (1970) Insect sperm, their structure and morphogenesis. *J. Cell Biol.*, 44, 243-277.
- RUNGGER B.E. (1976) Spermatogenesis in larval testis of *Drosophila hydei* cultured in vivo. *Wilhelm Roux Arch.*, 180, 79-81.
- SADO T. (1963) Spermatogenesis of the silkworm and its bearing on radiation induced sterility. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, 12, 359-404.
- SALAMA H.S. (1976) Spermatogenesis and testicular development in the gypsy moth, *Porthetria dispar* L. *Z. Angew. Entomol.*, 82(1), 102-110.
- SHEN S.K., BERRYMAN A.A. (1967) The male reproductive system and spermatogenesis of the European pine shoot moth, *Thyacionia buoliana* (Lepidoptera : Olethreutidae) with observations on the effects of gamma irradiation. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 60, 764-747.
- SHEPHERD J.F. (1974) Activation of saturniid moth sperm by a secretion of the male reproductive tract. *J. Insect Physiol.*, 20, 2107-2122.
- SNODGRASS R.E. (1935) *Principles of Insect Morphology*, Mc Graw-Hill, New York, p.550-580.
- SWART P.P. (1966) Anatomy and histology of the external and internal reproductive organs in the male and female false codling moth, *Argyroplote leucotreta* Meyr. (Lepidoptera). M. Sc. Thesis, University of Stellenbosch.
- TAZIMA Y. (1964) *The Genetics of the silkworm*. Logos Press, London.

DEVELOPPEMENT DES TESTICULES ET SPERMATOGENESE CHEZ LA LARVE, LA CHRYSALIDE ET L'ADULTE DU VER A SOIE ERI *PHILOSAMIA RICINI* - ETUDE HISTOLOGIQUE

H.K. HURKADLI*, M.A. HOOLI et V.B. NADKARNI

* Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.
Department of Zoology, Karnataka University, Dharwad 580 003, Inde.

Une paire de testicules devient distinctement visible chez la larve au 1er jour du 4ème âge. L'individualité de chaque testicule se maintient pendant toute la vie. La taille des testicules augmente progressivement et atteint son maximum le dernier jour de la nymphose. Chaque testicule est inclus dans une gaine péritonéale. Sous cette gaine péritonéale, il y a une couche épithéliale qui divise le testicule en quatre follicules par la formation des septa séparateurs. Chaque follicule contient des cellules à différents stades de la spermatogénèse. Les cellules apicales ne sont pas visibles chez le testicule de l'adulte. Les spermatides et les faisceaux de spermatozoïdes apparaissent dans le lumen du testicule à partir du 5ème jour de la nymphose. Le testicule de l'adulte contient à la fois des faisceaux de spermatozoïdes apyrènes et eupyènes.

INTRODUCTION

La structure du testicule et le processus de spermatogénèse ont été décrits chez un grand nombre d'espèces d'insectes. Callahan et Cascio (1963), Swart (1966), Joubert (1967) et Brits (1978) ont décrit la morphologie et l'histologie des organes reproducteurs mâles chez plusieurs espèces de Lépidoptères. Le processus de spermatogénèse a été décrit chez *Philosamia cynthia* (Kambysellis et Williams, 1971a, 1972), *Bombyx mori* (Mac Farlane et Tsao, 1974), *Drosophila melanogaster* (Kuroda, 1974; Cross et Shellenberger, 1979), *Porthetria dispar* (Salama, 1976), *Drosophila hydei* (Rungger, 1976), *Euproctis chrysorrhoea* (Leclercq-Smekens, 1978a), *Heliothis virescens* (Loeb et al., 1985). Dernièrement, certains aspects de la spermatogénèse chez les insectes ont été décrits (Moses, 1970; Phillips, 1970; Blum, 1970; Adiyodi et Adiyodi, 1974; Dumser, 1980). Le travail présenté ici a été entrepris pour étudier la structure histologique du testicule de *Philosamia ricini* au cours des stades larvaire, nymphal et adulte.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons utilisé comme matériel expérimental le ver à soie *Philosamia ricini* élevé dans le laboratoire. Pour l'étude histologique les animaux ont été tués; les testicules, prélevés tous les deux jours à partir du 1er jour du 5ème âge jusqu'au dernier jour de la nymphose (c'est-à-dire le 17ème jour) et chez les adultes avant et après accouplement, ont été plongés dans du milieu de Bouin pendant 20 à 25 heures, enrobés de paraffine et des coupes de 4 µ ont été effectuées et colorées à l'hématoxyline et l'éosine et montées. Nous avons mesuré la longueur et la largeur du testicule et l'épaisseur de l'épithélium des follicules chez 10 spécimens pendant les 4ème et 5ème âges larvaires et aux stades nymphal et adulte afin d'en connaître les variations. Les valeurs moyennes de 10 mesures sont données dans le Graphique 1. Le développement des différents stades spermatogénétiques tels que : 1) spermatogonies, 2) spermatocytes primaires, 3) spermatocytes secondaires, 4) spermatides et 5) faisceaux de spermatozoïdes, ont également été étudiés au

microscope pour dénombrer ces différents stades sur chaque lame aux stades larvaire, nymphal et adulte. La méthode suivie est semblable à celle décrite par Salama (1976) pour les testicules du papillon zigzag *P. dispar*. Le nombre moyen de ces différents stades spermatogénétiques et le pourcentage de ces stades sont donnés sur le Graphique 2.

RESULTATS ET DISCUSSION

On a localisé une paire de testicules distincts entourés de corps gras situés de chaque côté de l'axe longitudinal de l'animal. Chaque testicule comprend 4 follicules et est entouré d'une gaine de tissus conjonctifs ou gaine péritonéale. L'enveloppe du testicule est constituée par la gaine péritonéale externe et une gaine péritonéale interne ou épithélium folliculaire. La gaine péritonéale est composée d'une ou deux couches de petites cellules disposées irrégulièrement, avec des noyaux ronds ou sphériques contenant chacun un nucléole distinct. C'est la gaine épithéliale qui entoure chaque follicule et les sépare (Fig. 1). Les quatre follicules sont complètement séparés les uns des autres par les septums. Un complexe de cellules apicales formé de 4 à 6 cellules de grande taille est visible sur la limite externe de l'épithélium dans les follicules. Chaque cellule contient un volume important de cytoplasme et un petit noyau rond avec un nucléole distinct. Des groupes de spermatogonies entourées par une membrane vésiculaire sont visibles sur le bord des cellules apicales en direction du lumen. Les spermatogonies sont rondes ou en forme de polygone avec un cytoplasme épais. Certaines vésicules contiennent quelques petites cellules rondes, ayant chacune un noyau excentré et un cytoplasme éosinophile. Ces cellules semblent être des spermatogonies en dégénérescence. La taille du testicule continue à augmenter pendant le 4ème et le 5ème âges larvaires, pendant la nymphose et atteint sa taille maximale le dernier jour de la nymphose. De la même manière, l'épaisseur de l'épithélium des follicules continue à augmenter pendant le 4ème et le 5ème âges larvaires et atteint son maximum le 1er jour de la nymphose, ensuite l'épaisseur diminue progressivement pour atteindre son minimum le dernier jour de la nymphose. La taille du testicule chez les adultes avant l'accouplement est légèrement moins grande que chez la nymphe au dernier jour, et diminue encore chez les adultes après l'accouplement (Graphique 1). Dans la région apicale ou la zone du germarium du testicule, les follicules contiennent des vésicules spermatogoniales et la région suivante, ou zone de croissance, contient des cellules spermatogoniales qui se divisent par mitose à gion apicale des follicules testiculaires de la larve et de la région suivante commencent à se placer sur la membrane de la vésicule, ce qui fait qu'un espace ou atrium commence à se former au centre de la vésicule et ainsi les vésicules spermatogoniales commencent à former les spermatocytes primaires sur la membrane vésiculaire. Les spermatocytes secondaires sont observés dans la partie inférieure des follicules, la zone des spermatocytes du testicule de la larve à la fin du 5ème âge (Fig. 2). Les composants du testicule pendant les trois premiers jours de la nymphose sont semblables à ceux de la larve du 5ème âge à l'exception d'un changement dans le pourcentage respectif des cellules spermatogoniales et des spermatocytes primaires et secondaires. A partir du 5ème jour de la nymphose les spermatocytes secondaires commencent à se transformer en spermatides lesquelles se transforment en faisceaux de spermatozoïdes (Fig. 3). Les spermatides et les faisceaux de spermatozoïdes sont à l'intérieur de la membrane vésiculaire. Pendant la nymphose, la hauteur de la gaine péritonéale diminue tandis que celle de l'épithélium folliculaire augmente. Le complexe de cellules apicales n'est pas observé chez les adultes. Les septums séparateurs des follicules ne se rompent pas et persistent même chez les adultes en maintenant l'individualité de chaque follicule (Fig. 3). Les pourcentages de cellules spermatogoniales, de spermatocytes primaires et secondaires, de spermatides et de faisceaux de spermatozoïdes dans le testicule, au cours des stades larvaire, nymphal et adulte, sont représentés dans le Graphique 2.

Le testicule chez l'adulte contient un grand nombre de faisceaux de spermatozoïdes eupyrènes et quelques uns apyrènes ainsi que d'autres composants spermatogénétiques en petit nombre. La membrane du testicule est principalement constituée de chaînes de tissus conjonctifs fibreux avec des cellules aplaties (Fig. 4). Le testicule chez l'adulte après l'accouplement contient principalement des faisceaux de spermatozoïdes et quelques spermatides (Fig. 5). L'identification du testicule au cours des différents âges larvaires varie selon les espèces de Lépidoptères (Leclercq-Smekens, 1978a; Brits, 1978). Dans notre étude, les testicules ont été détectés chez la larve de *Philosamia ricini* au 4ème âge.

Les testicules de *P. ricini* ne fusionnent pas pour former un seul testicule comme chez d'autres Lépidoptères et restent séparés en paire comme chez les Saturniides (Shepherd, 1974). Chaque testicule est constitué par quatre follicules et cet aspect se retrouve chez les testicules des larves d'autres Lépidoptères.

L'augmentation de la taille des testicules au cours des âges larvaires a été observée chez quelques espèces de Lépidoptères (Alexander et Chippendale, 1973 ; Brits, 1978). L'augmentation de volume est liée au taux de spermatogénèse. Salama (1976) a observé cette augmentation du volume du testicule pendant le stade larvaire et le début de la nymphose et ensuite une diminution progressive chez la nymphe âgée, puis chez le papillon. Il a fait la relation entre la diminution de volume du testicule pendant la nymphose et la migration des spermatozoïdes dans les canaux déférents. Phillips (1970) a écrit que l'augmentation rapide du volume du testicule est due au taux de croissance rapide des spermatogonies. Nos observations chez *P. ricini* indiquent que la taille du testicule augmente progressivement et atteint son maximum au dernier jour de la nymphose seulement. Cette observation suggère que les produits des spermatogonies, par exemple les faisceaux de spermatozoïdes, sont retenus dans le lumen du testicule et pas encore libérés dans le vas deferens. La taille du testicule diminue chez l'adulte avant l'accouplement. Ces observations suggèrent que certains des faisceaux de spermatozoïdes sont peut-être transférés dans les vas deferens et que cela entraîne la diminution de taille du testicule.

Salama (1976) a observé que les quatre follicules de chaque testicule de *P. dispar* sont recouverts par une membrane externe commune et par la gaine épithéliale interne. La membrane du testicule est délimitée à l'extérieur par la tunica externa et à l'intérieur par la tunica interna. La capsula lobuli est une couche de tissu conjonctif qui forme avec la tunica interna les septums folliculaires séparant le testicule en quatre follicules, de la même manière que chez *Bombyx mori* (Omura, 1936). La membrane testiculaire de *P. ricini* est en général semblable à celle décrite pour *P. dispar* (Salama, 1976), *P. operculella* (Brits, 1978) et *E. chrysorrhea* (Leclercq-Smekens, 1978a). La gaine péritonéale du testicule de *P. ricini* correspond à la membrane commune de *P. dispar*. Les testicules de *P. ricini* ne sont pas fusionnés pour former un seul testicule à aucun stade du développement et les septums folliculaires du testicule restent intacts même chez l'adulte.

Le tube testiculaire de la région apicale possède une cellule apicale ou cellule versoniale à l'apex du germarium, des spermatogonies dans la région germinale et les cellules vésiculaires, enveloppant les spermatogonies (Snodgrass, 1935 ; Salama, 1976 ; Leclercq-Smekens, 1978a ; Hardy et al., 1979). Dans l'étude présente, la région apicale des follicules testiculaires de la larve et de la nymphe de *P. ricini* contiennent une vésicule spermatogoniale incluse dans des cellules vésiculaires et des cellules apicales. On observe dans la zone de croissance la vésicule contenant de petites cellules rondes avec un noyau plein excentré et un cytoplasme éosinophile. Les vésicules contenant de telles cellules représentent probablement les cellules spermatogoniales en dégénérescence et disparaissant avant d'atteindre la zone des spermatides. La dégénérescence des cellules germinales chez le testicule des insectes a été précédemment décrite (Alexander et Chippendale, 1973 ; Dumser, 1980). Brits (1978) a observé que les follicules testiculaires de la larve de *P. operculella* contiennent des spermatogonies entourées par les cellules vésiculaires. Les cellules apicales chez le testicule de *P. ricini* apparaissent en groupes comme chez *P. dispar* et *E. chrysorrhea*.

La spermatogénèse complète a lieu au cours de la vie larvaire et nymphale chez les insectes qui ont un cycle de vie court (Sado, 1963 ; Tazima, 1964). Les cellules germinales dans les follicules testiculaires sont à différents stades de développement au cours des périodes larvaire, nymphale et adulte des insectes. Shen et Berryman (1967) ont observé des spermatozoïdes matures peu de temps après la nymphose chez *R. buoliana*. Salama (1976) écrit que, au cours des premiers âges larvaires de *P. dispar*, on n'observe que des cellules spermatogoniales, les spermatocytes primaires apparaissant au 4ème âge larvaire et les spermatides et spermatozoïdes formés au cours du 5ème âge larvaire, des stades pré-nymphal et nymphal. Leclercq-Smekens (1978a) a observé que chez *E. chrysorrhea*, la spermatogénèse est achevée avant que le stade adulte soit atteint. Brits (1979) a montré que les testicules de larve de *P. operculella* contiennent respectivement des spermatogonies, des spermatocytes et des spermatides aux 1er, 2ème et 3ème âges larvaires. Les testicules de la larve au 4ème âge contiennent des faisceaux de spermatozoïdes et d'autres stades spermatogénétiques moins avancés. Le testicule de la nymphe et de l'adulte contient principalement des spermatides et des

spermatozoïdes. Dans notre étude sur le testicule de *P. ricini*, on observé les cellules spermatogoniales chez la larve au 4ème âge, les spermatocytes primaires et secondaires, les spermatides et les faisceaux de spermatozoïdes apparaissant à partir du 7ème jour de la nymphose jusqu'au dernier jour de la nymphose, et également présents chez l'adulte. Il ressort bien évidemment de notre étude que l'apparition des différents stades spermatogénétiques varie selon l'espèce et que la spermatogénèse est achevée avant que le stade adulte ait été atteint car ce papillon adulte vit peu de temps et commence à s'accoupler peu après l'émergence.

La production de spermatozoïdes eupyrènes et apyrènes a été observée chez des espèces de Lépidoptères (Salama, 1976 ; Katsuno, 1977). Holt et North (1970) ont montré que chez l'arpenreuse du chou, *Trichoplusia ni*, les spermatozoïdes apyrènes sont transférés chez la femelle lors du premier accouplement au cours duquel le transfert du sperme peut ne pas réussir. Ceci signifie peut-être que les spermatozoïdes eupyrènes ne sont pas gaspillés au cours du premier accouplement. C'est peut-être une adaptation à la courte durée de vie de l'adulte chez les Lépidoptères. Notre étude montre que *P. ricini* produit à la fois des faisceaux eupyrènes et apyrènes. Nous avons observé que durant la première éjaculation les faisceaux de spermatozoïdes apyrènes sont transférés chez la femelle. Ensuite après 25 minutes, lors de la deuxième éjaculation ce sont les spermatozoïdes eupyrènes qui sont transférés. Les spermatozoïdes eupyrènes qui ne sont pas gaspillés aident donc à la fécondation d'un nombre d'oeufs maximal.

GENOTYPIC AND PHENOTYPIC VARIABILITY OF SOME QUANTITATIVE CHARACTERS IN *ANTHERAEA MYLITTA* D.

A.A. SIDDIQUI, A.K. SENGUPTA, AJIT KUMAR and K. SENGUPTA, Breeding, and Genetics Laboratory, Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi-5, India.

Phenotypic and genotypic variability were studied in the 6 parents and 15 F₁ population of A. mylitta D., which were crossed in one way diallel fashion, during seed crop 1984 at CTR&TI, Basic Seed Multiplication and Training Centre, Pali Dist., Bilapur (M.P.). A wide range of phenotypic variability was observed for fecundity larval weight, shell weight and silk yield. The character shell weight and shell ratio gave the highest estimate of genetic coefficient of variation, followed by effective rate of rearing and silk yield. Heritability estimates were high for silk yield, shell ratio, shell weight and larval weight. Shell weight were found to have high genetic advance followed by shell ratio. Moderate genetic gain were found for effective rate of rearing.

INTRODUCTION

Environment has a great bearing upon many of the economically important characters which are quantitatively inherited. Thus, it becomes difficult to judge whether the observed variability is heritable or due to environmental effects, therefore, it is necessary to work out the quantum of heritable and non heritable components of the total variability of a population. The objective is to estimate the amount of heritable variability in a divergent group of 21 lines with the hope that the results may be put to use in future breeding programme of *A. mylitta* D.

MATERIALS AND METHODS

The material comprised 21 lines; 6 parents i.e. Daba, RF₁, RF₄, RF₃₅, RS and Laria-8 and 15 crosses of these lines on the basis of one way cross. These lines were reared in randomized block design with three replications. Data were collected randomly on eight characters viz. fecundity, larval weight, effective rate of rearing, cocoon weight, pupal weight, shell weight, shell ratio and silk yield. The components of variance and coefficient of variation were calculated. As variance estimates are dependant on the scale of measurement used, it is not possible to have an idea of the relative magnitude of variance of different characters. For such a comparison, coefficients of genetic variation (Gcv) were computed by dividing the square root of the genotypic variance (σ^2_g) by the population mean and multiplying it by 100, (Burton, 1952):

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

The data were further utilized to determine heritability in the broad sense (Lush, 1949, quoted by Allard, 1960) were calculated by the following formula :

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

σ^2_g = genotypic variance, σ^2_{ph} = phenotypic variance.
 $\sigma^2_{ph} = \sigma^2_g + \sigma^2_e / N$ of replication, $\sigma^2_g = \sigma^2_{ph} - \sigma^2_e / N$ of replication.
 σ^2_e = error variance.

Genetic advance were worked according to the method given by Allard (1960):

G.A. = (k) (σA) X H

Where K = selection intensity

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

H = heritability.

Characters	Degree of freedom	Treatments mean sum of squares	Error
<i>Caractères</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Somme moyenne des carrés</i>	<i>Ecart Ecart</i>
1. Silk yield <i>Rendement soie</i>	20	465.81***	7.91
2. Fecundity <i>Fécondité</i>	"	1103.09***	210.77
3. Larval weight <i>Poids larvaire</i>	"	23.87***	3.30
4. Effective rate of rearing <i>Taux effectif d'élevage</i>	"	160.09***	30.18
5. Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	"	3.50***	0.77
6. Pupal weight <i>Poids chrysalides</i>	"	2.42***	0.56
7. Shell weight <i>Poids de la coque</i>	"	1.08***	0.10
8. Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	"	81.51***	1.71

*** P= 0.1

Table I. Analysis of variance for eight characters

Tableau I. Analyse de variance pour huit caractères.

Characters	Range	Mean	S.E.	C.D. at 5% level	S.D.
<i>Caractères</i>	<i>Amplitude</i>	<i>Moyenne</i>	<i>S.E.</i>	<i>C.D. à 5%</i>	<i>S.D.</i>
1. Silk yield (g) <i>Rendement soie(g)</i>	90.58-165.82	122.88	±5.18	6.71	23.74
2. Fecundity (N.) <i>Fécondité(N)</i>	188.66-360.67	242.38	±7.56	8.11	34.68
3. Larval weight (g) <i>Poids larvaire (g)</i>	26.02-39.82	31.32	±0.70	2.46	3.22
4. Effective rate of rearing (%) <i>Taux effectif d'élevage</i>	29.95-44.65	38.19	±1.76	3.91	8.09
5. Cocoon weight (g) <i>Poids du cocon</i>	9.23-11.93	10.76	±0.17	1.21	8.79
6. Pupal weight (g) <i>Poids chrysalide</i>	7.80-10.20	9.26	±0.15	1.14	8.71
7. Shell weight(g) <i>Poids coque soyeuse</i>	0.96-1.75	1.35	±0.03	0.51	0.17
8. Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	11.14-17.75	13.14	±0.31	1.64	1.44

Table II. Phenotypic variability in various characters in *A. mylitta* D.Tableau II. Variabilité phénotypique pour les divers caractères chez *A. mylitta*.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of variance indicated significant differences among the varieties in respect of all the characters under study, (Table I). The extent of variabilities present in various characters is shown in Table II. The maximum range of variation was exhibited by silk yield followed by fecundity and larval weight. The least variation was observed in cocoon weight and pupal weight. The varietal differences in respect of all characters were highly significant. The estimates of phenotypic, genotypic and environmental variance of different characters are given in Table III. A perusal of the estimates would indicate that these are markedly influenced by environments. The phenotypic and genetic variance in respect of silk yield, fecundity, larval weight and effective rate of rearing (ERR) is higher. A comparatively lower range of variability was observed in characters like cocoon weight, shell

Characters	Phenotypic variance	Genetic variance	Error variance
<i>Caractères</i>	<i>Variance phénotypique</i>	<i>Variance génotypique</i>	<i>Variance de l'écart</i>
Silk yield <i>Rendement soie</i>	157.91	152.63	2.64
Fecundity <i>Fécondité</i>	437.95	297.44	70.26
Larval weight <i>Poids larvaire</i>	9.06	6.86	1.10
Effective rate of rearing <i>Taux effectif d'élevage</i>	63.42	42.30	10.06
Cocoon weight <i>Poids des cocons</i>	1.42	0.91	0.26
Pupal weight <i>Poids des chrysalides</i>	0.99	0.62	0.19
Shell weight <i>Poids de coque</i>	0.39	0.33	0.03
Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	29.74	26.60	0.57

Table III. Estimates of phenotypic, genotypic and error variance for the eight characters.

Tableau III. Estimations des variances phénotypiques, génotypiques et de l'écart pour les huit caractères.

weight, pupal weight and shell ratio. The coefficient of phenotypic, genotypic variations; heritability and genetic advance in percentage of mean are presented in Table IV. The phenotypic and genotypic coefficient of variation for different characters ranged from 8.63, 7.12 for fecundity to 46.26, 42.55 for shell weight. The coefficients of variation (genotypic and phenotypic) was moderately high for shell weight and shell ratio while it was low for others. Siddiqui *et al.* (1983, 1985) earlier reported high coefficient for shell ratio. Estimates of heritability are useful to the breeder as it provides a basis for selection on phenotypic performance. In the present investigation, heritability values were obtained for characters like shell ratio, shell weight, larval weight, ERR%, fecundity and cocoon weight.

Characters	Phenotypic coefficient of variation	Genotypic coefficient of variation	Heritability (%)	Genetic advance in percentage of mean
<i>Caractères</i>	<i>Coefficient phénotypique de variation</i>	<i>Coefficient génotypique de variation</i>	<i>Héritabilité (%)</i>	<i>Avance génétique en pourcentage de la moyenne</i>
Silk yield <i>Rendement de soie</i>	10.22	10.05	96.66	20.06
Fecundity <i>Fécondité</i>	8.63	7.12	67.92	12.08
Larval weight <i>Poids larvaire</i>	9.61	8.36	75.72	14.97
Effective rate of rearing <i>Taux effectif d'élevage</i>	20.85	17.23	68.27	29.33
Cocoon weight <i>Poids du cocon</i>	11.07	8.87	64.08	14.62
Pupal weight <i>Poids chrysalide</i>	10.75	8.07	62.63	13.86
Shell weight <i>Poids coque soyeuse</i>	46.26	42.55	84.62	79.82
Shell ratio <i>Richesse soyeuse</i>	41.50	39.25	89.44	76.43

Table IV. Estimates of phenotypic, genotypic coefficients of variation, heritability and genetic advance expressed in percentage of mean.

Tableau IV. Estimation des coefficients de variation phénotypique et génotypique, de l'héritabilité et de l'avance génétique exprimée en pourcentage de la moyenne.

In the present investigation, heritability, values were high in shell ratio (89.44) shell weight (84.62), larval weight (75.72), E.R.R.% (68.27), fecundity (67.92) and cocoon weight (64.68). The present findings are in close agreement with the observations of Sen *et al.* (1976) for shell ratio (99.09),

cocoon weight (87.94), shell weight (85.89) and fecundity (78.20) and also with the observations made by Siddiqui *et al.* (1985), as cocoon weight (80.86), shell weight (78.13) silk ratio (74.60) larval weight (52.36) and fecundity (50.32). The differences in observations of these characters can be attributed to the differences in material, places and years.

The expected genetic advance in percentage of mean showed a wide range from 13.86% for pupal weight to 79.82% for shell weight. Johnson *et al.* (1955) reported that heritability estimates along with genetic gain were of greater value than the heritability alone, in predicting the effect of selection. High heritability does not necessarily mean that the character will show high genetic advance but whenever this association occurs, additive gene effects probably play the major and most important role (Panse, 1957). So, the greater advances are anticipated, through mass or any type of selection procedure to improve these characters.

In the present study, high heritability was associated with high genetic gain in the case of shell weight, and shell ratio indicating that additive gene effects are important in determining these characters. Siddiqui *et al.* (1983,1985) earlier reported the same results. The high heritability with low genetic gain in other characters is possibly due to intra and inter-allelic interactions, recurrent selection may be helpful to improve these characters.

REFERENCES

- ALLARD R.W.(1960), Principle of plant breeding, John Velly and Sons, New York.
- BURTON G.W. (1952), Quantitative inheritance in grasses. Proc. 6th Int. Grassld. Cong. I, 277-283.
- JOHNSON H.W., ROBINSON H.F. and COMSTOCK R.E. (1955), Estimates of genetic and environmental variability in soyabeans. Agron. J., 47, 314-318.
- LUSH J.L., (1949), Animal breeding plans. The collegiate Press, Ames, Iowa, Ed. 3.
- PANSE V.G.(1957), Genetics of Quantitative characters in relation to plant breeding, Indian J. Genet., 17, 318-328.
- SEN S.K., SENGUPTA A.K. and JOLLY M.S., (1976), Studies on genetic variability, correlation and path coefficient analysis, discriminate function in *A. mylitta* D., Ind. J. Seri., 15, 9-14.
- SIDDIQUI A.A., DEBNATH A.K. and SENGUPTA K. (1983), A study of genetic variability of some economic traits in *Antheraea mylitta* D., Proc. National Seminar on Silk research and development, 41.
- SIDDIQUI A.A., DEBNATH A.K. and SENGUPTA (1983), Variability and correlation studies of shell weight and their contributing traits in *A. mylitta* D., Sericologia, 25(1), 45-50.

VARIABILITE GENOTYPIQUE ET PHENOTYPIQUE POUR QUELQUES CARACTERES QUANTITATIFS CHEZ *ANTHERAEA MYLITTA* D.

A.A. SIDDIQUI, A.K. SENGUPTA, AJIT KUMAR and K. SENGUPTA, Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi-5, Inde.

Les variabilités phénotypiques et génotypiques ont été étudiées chez les populations parentales et 15 F₁ de A. mylitta D. croisées pendant la récolte de graines de 1984 au CTR&TI, Basic Seed Multiplication and Training Centre, Pali Dist., Bilapur (M.P.). Un large éventail de variabilité phénotypique a été observé pour la fécondité, le poids larvaire, le poids de la coque et le rendement en soie, la richesse soyeuse, le poids de la coque et le poids larvaire. On a remarqué que le poids de la coque donne une forte avance génétique, suivi par la richesse soyeuse. Une avance génétique additive modérée a été notée pour le taux effectif d'élevage.

INTRODUCTION

L'environnement a une grande influence sur de nombreux caractères économiquement importants qui sont quantitativement hérités. Ainsi, il devient difficile de juger si la variabilité observée est héréditaire ou due aux effets de l'environnement, il faut donc essayer de déterminer la part des composants héréditaires et non héréditaires de la variabilité d'une population. L'objectif est donc l'estimation de la variabilité génétique dans un groupe divergent de 21 lignées, en espérant que les résultats puissent être mis en application dans un futur programme d'élevage de *A. mylitta* D.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel comprend 21 lignées, 6 parentales, à savoir Daba, RF₁, RF₃₅, RS et Laria-8, et 15 croisements de ces lignées sur la base d'un croisement dans un seul sens. Ces lignées sont élevées dans des blocs choisis au hasard ; trois répliques sont effectuées pour chacune. Les données sont assemblées au hasard sur huit caractères, à savoir la fécondité, le poids larvaire, le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids de la coque, la richesse soyeuse et le rendement en soie. Nous avons calculé les composants de la variance et le coefficient de variation. Comme les estimations de variance dépendent de l'échelle de mesure utilisée, il n'est pas possible d'avoir une idée de l'importance relative de variance des différents caractères. Pour effectuer une telle comparaison, les coefficients de variation génétique (Gcv) ont été calculés en divisant la racine carrée de la variance génotypique (σ^2_g) par rapport à la moyenne de population et en multipliant par 100, Burton (1952) :

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

Les données sont utilisées ensuite pour déterminer l'héritabilité dans son sens large (Lush, 1949) cité par Allard (1960) qui est calculé par la formule suivante :

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

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

$\sigma^2_{ph} = \sigma^2_g + \sigma^2_e$ / Nbr. de replications, $\sigma^2_g = \sigma^2_{ph} - \sigma^2_e$ / Nbr. de replications

σ^2_e = écart.

La génétique additive a été calculée selon la méthode donnée par Allard (1960)

G.A. = (K) (σA) x H

où K = pression de sélection

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

H = héritabilité

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse de variance indique des différences significatives selon les variétés pour les divers caractères étudiés (Tableau I). L'importance des variabilités constatées pour les divers caractères est indiquée dans le Tableau II. L'amplitude maximum de variation apparaît pour le rendement en soie, suivi par la fécondité et le poids larvaire. Les différences variétales pour tous les caractères sont hautement significatives. Les estimations des variances phénotypiques, génotypiques, et de l'environnement pour les différents caractères sont données dans le Tableau III. Une lecture attentive des estimations indiquent que celles-ci sont fortement influencées par l'environnement. La variance phénotypique et génétique pour le rendement en soie, la fécondité, le poids larvaire et le taux effectif d'élevage (E.E.R.), est plus élevée. Une variation relativement plus basse est observée pour les caractères, tels que le poids du cocon, le poids de la coque, le poids de la chrysalide et la richesse soyeuse. Le coefficient des variations phénotypiques, génotypiques, l'héritabilité et l'avance génétique en pourcentage de la moyenne sont présentés dans le Tableau IV. Les coefficients phénotypiques et génotypiques de variation pour les divers caractères vont de 8,63 à 7,12 pour la fécondité, de 46,26 à 42,55 pour le poids de la coque. Le coefficient de variation (génotypique et phénotypique) est modérément élevé pour le poids de la coque et la richesse soyeuse, alors qu'il est faible pour les autres. Siddiqui *et al.* (1983, 1985) ont observé précédemment un fort coefficient pour la richesse soyeuse. Les estimations d'héritabilité sont utiles pour l'éleveur, dans la mesure où elles permettent une sélection basée sur la performance phénotypique. Dans cette étude, des résultats ont été obtenus pour les caractères tels que la richesse soyeuse, le poids de la coque, le poids larvaire, le taux effectif d'élevage, la fécondité et le poids du cocon.

L'héritabilité est forte pour la richesse soyeuse (89,44), le poids de la coque (84,62), le poids larvaire (75,72), % E.E.R. (68,27), la fécondité (67,92) et le poids du cocon (64,68). Ces résultats concordent avec les observations de Sen *et al.* (1976) pour la richesse soyeuse (99,09), le poids du cocon (87,94), le poids de la coque (85,89) et la fécondité (78,20) et avec celles de Siddiqui *et al.* (1985), pour le poids du cocon (52,35) et la fécondité (50,32). Les différences dans l'observation de ces caractères peuvent être attribuées aux différences de matériel, lieux et années.

L'avance génétique attendue en pourcentage de la moyenne donne un large éventail allant de 13,86 % pour le poids de la chrysalide à 79,82 % pour le poids de la coque. Johnson *et al.* (1955) a écrit que les estimations d'héritabilité ainsi que le gain génétique comptaient plus que l'héritabilité seule pour prédire l'effet de la sélection. Une forte héritabilité ne signifie pas nécessairement que le caractère va présenter une forte avance génétique mais que là où cette association se présente, les effets de gène additif jouent certainement le rôle le plus important (Panse, 1957). Aussi, la sélection de masse ou tout autre type de sélection laisse supposer les plus grands progrès dans le domaine de l'amélioration de ces caractères.

Dans cette étude, à une forte héritabilité est associé un fort gain génétique dans le cas du poids de la coque et de la richesse soyeuse, indiquant l'importance des effets des gènes additifs dans la détermination de ces caractères. Siddiqui *et al.*, (1983, 1985) ont précédemment rapporté des résultats identiques. Une forte héritabilité associée à un gain génétique faible pour d'autres caractères vient peut-être des actions intra et inter-alléliques. Une sélection récurrente peut être utile pour améliorer ces caractères.

PACHYTENE SYNAPTONEMAL COMPLEX ANALYSIS IN INDIAN ERI SILKWORM *PHILOSAMIA CYNTHIA*

N. IBOTOMBI, Th. BHAGIRATH and S.C. KUNDU, Department of Life Sciences, Manipur
University, Imphal 795 003, India.

*Pachytene synaptonemal complex karyotype of the wild eri silkworm *Philosamia cynthia* has been studied using surface spreading technique and light microscope. Fourteen synaptonemal complexes were observed in all the analyzable pachytene nuclei. The gradual decrease in length from chromosome no. 1 to chromosome no. 14, absence of recognizable centromere and other chromosome markers make a precise characterization of all the 14 synaptonemal complexes impossible. One nucleolar bivalent is present in a diploid complement. The Z and W chromosomes could not be distinguished from the autosomes as they have exactly the same length forming a complete synaptonemal complex from telomere to telomere and do not possess any distinguishing character. The synaptonemal complex karyotype of this species is similar to that of domesticated eri silkworm, *P. ricini* in several aspects.*

INTRODUCTION

The genus *Philosamia* is interesting from cytogenetical point of view as the domesticated *Philosamia ricini* and the feral *P. cynthia* have the same chromosome number (see introduction: Narang and Gupta, 1979; discussion: Padhy and Nayak, 1984). Hybridization between the two species has been performed by several workers purely for cytotaxonomic considerations and for determining the extent of chromosome compatibility (Padhy and Nayak, 1984). In the course of an investigation on the mechanism of synaptic adjustment in the F₁ progenies of the two species it was felt that some systematic pachytene karyotyping of the two species was required. In this paper we present the *P. cynthia* synaptonemal complex (SC) karyotype and its comparison with that of *P. ricini*.

MATERIALS AND METHODS

Philosamia cynthia females collected from the wild were used in the present study. Surface-spread preparation of the SCs from the ovaries and the measurement of relative lengths of the SCs have already been described (Bhagirath *et al.*, 1988).

RESULTS AND DISCUSSION

Fourteen SCs were observed in all the analyzable pachytene nuclei (Fig. 1) indicating that its diploid chromosome number is 28. The SCs are long and normally coiled or curved or arranged in tandem making the identification of individual SCs difficult. The attachment plates are distinct as in the case of all the animals studied so far. Several bead-like structures are present along the SCs. At pachytene the nucleolus is normally absent and so do the nucleolar organizers also. Yet very occasionally a single spherical nucleolus is attached to a SC dividing the latter into two arms at a ratio of approximately 1:2 (inset). The ZW chromosomes have exactly the same length and form a complete

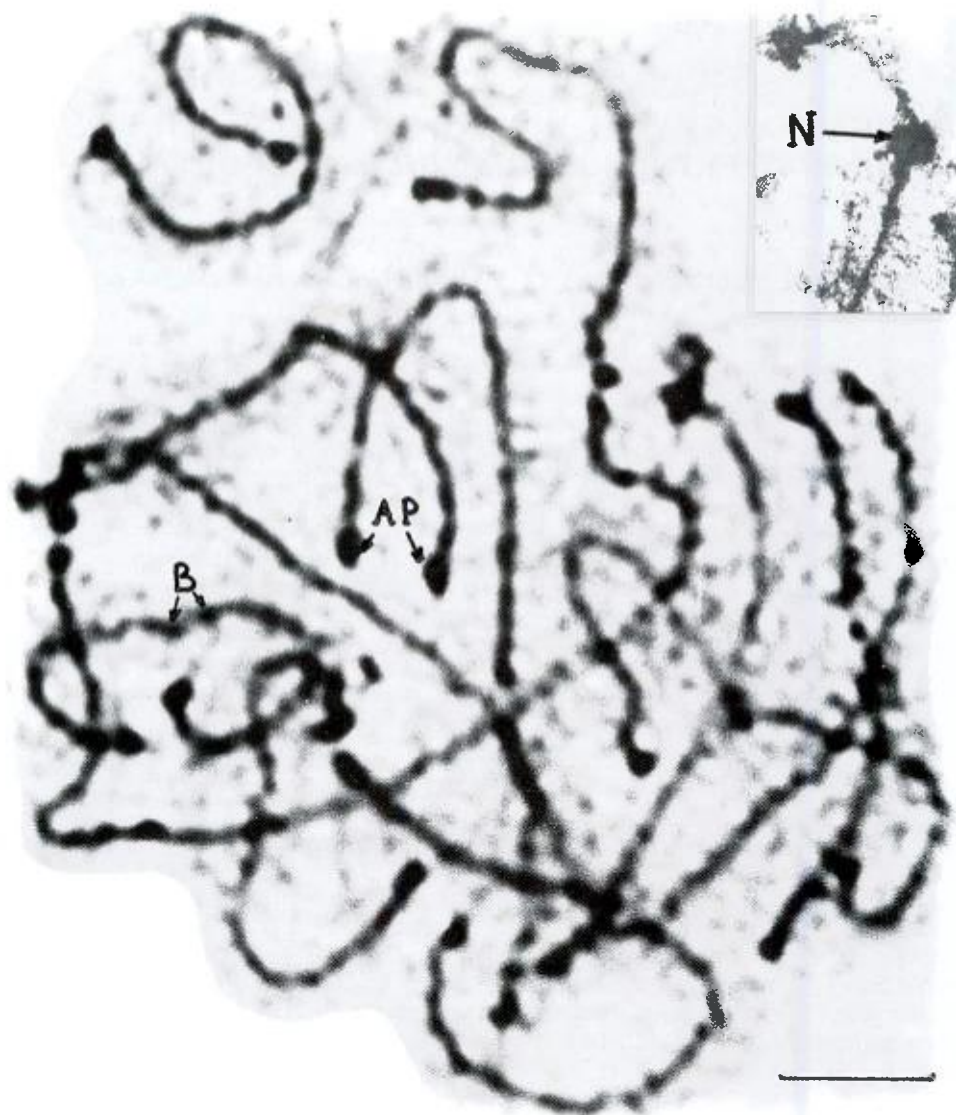


Figure 1. A complete set of 14 surface-spread and silver-stained pachytene synaptonemal complex complement of female *Philosamia cynthia*.

Figure 1. Complexe synaptonémal complet au stade pachytène après étalement de surface et coloration à l'argent préparé à partir d'une femelle de *Philosamia cynthia*.

Note the attachment plaque (AP) and beads (B) / Noter les plaques d'attachement (AP), les chapelets (B).

Inset: a nucleolar bivalent with a nucleolus (N) / Encadré : un bivalent nucléolaire avec un nucléole (N).

Bar = 5 micron / Barre = 5 microns

Chromosome/ <i>Chromosome</i>	Mean length/ <i>Longueur moyenne</i>	Standard deviation <i>Ecart-type</i>
1	10.1	0.2
2	9.4	0.1
3	9.3	0.1
4	7.8	0.2
5	7.5	0.3
6	7.3	0.1
7	7.2	0.1
8	7.1	0.2
9	6.9	0.1
10	6.8	0.1
11	6.6	0.1
12	5.9	0.1
13	4.5	0.1
14	3.2	0.2

Table I. Mean lengths of the synaptonemal complexes in female *Philosamia cynthia* calculated from 5 pachytene nuclei and given as percentage of the total complement length.

Tableau I. Longueurs moyennes des complexes synaptonémaux chez les femelles de Philosamia cynthia calculées à partir de 5 noyaux du pachytène et données en pourcentage de la longueur totale du complément.

SC from telomere to telomere. The sex chromosomes could not be identified as in the case of all the lepidopteran species studied so far.

Table I shows the mean relative lengths of SCs calculated from 5 pachytene nuclei. There is a gradual decrease in length from SCs No. 1 to No. 14. Small standard deviations indicate that variation

in lengths among the SCs within a particular nucleus is small. These factors coupled with the absence of recognizable centromere and other markers like knobs, etc., make the identification of medium length SCs impossible.

The pachytene SC complement of female *P. ricini* (Bhagirath *et al.*, 1988) is similar to that of *P. cynthia* in several aspects. In both the species the diploid chromosome number is 28, one nucleolar bivalent is present in a diploid complement. The SC lengths of the two species agree very close to each other. The difference between the means of corresponding individual SCs is not significant (P0.05).

The pairing behaviour of the parental chromosomes in F₁ gonads has revealed a high degree of genetic balance between the two species (submitted). Protein banding pattern and chromosome banding pattern will reveal the differences between the two genomes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was supported by the Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.

REFERENCES

- BHAGIRATH Th., KUNDU S.C., IBOTOMBI N. (1988), Pachytene synaptonemal complex analysis in an Indian silkworm, *Philosamia ricini*., *Sericologia*, 28(1), 99-104.
- MOSES M.J. (1977), The synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). I. Morphology of the autosomal complement in spread preparations. *Chromosoma*, 60, 99-125.
- NARANG R.C., GUPTA M.L. (1979), Chromosomal studies in eri silk moth *Philosamia ricini* utt. (Lepidoptera: Saturniidae). *Entomon.*, 4, 217-221.
- PADHY K.B., NAYAK B. (1984), Cytogenetic studies on the interspecific hybrid between *Philosamia ricini* and *Philosamia cynthia* (Saturniidae, Lepidoptera). In: *Perspectives in Cytology and Genetics* (G.K. Manna and U. Sinha eds.), 4, 451-454.
- SUNG W.K., JAGIELLO G. (1982), A technique for light and electron microscopy of the synaptonemal complex of the mouse oocyte. *Can. J. Genet. Cytol.*, 24, 675-680.

ANALYSE DU COMPLEXE SYNAPTONEMAL AU STADE PACHYTENE CHEZ LE VER A SOIE ERI *PHILOSAMIA CYNTHIA*

N. IBOTOMBI, Th. BHAGIRATH et S.C. KUNDU, Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal 795 003, Inde.

*Le caryotype du complexe synaptonémal au stade pachytène chez le ver à soie sauvage *Philosamia cynthia* a été étudié en microscopie optique après étalement de surface. 14 complexes synaptonémaux ont été observés chez tous les noyaux du pachytène analysables. La diminution progressive de longueur entre les chromosomes n1 et n14, l'absence de centromères et d'autres marqueurs chromosomiques reconnaissables rendent impossible une caractérisation précise des 14 complexes synaptonémaux. Un bivalent nucléolaire est présent dans un complément diploïde. Les chromosomes Z et W ne peuvent être distingués des autosomes car ils ont exactement la même longueur formant un complexe synaptonémal complet de télomère à télomère et ne possèdent aucun trait caractéristique. Le caryotype du complexe synaptonémal de cette espèce est similaire à celui du ver à soie eri domestique *P. ricini* sous plusieurs aspects.*

INTRODUCTION

Le genre *Philosamia* est intéressant du point de vue cytogénétique car le ver à soie domestique *Philosamia ricini* et le ver à soie sauvage *Philosamia cynthia* ont le même nombre de chromosomes (cf. introduction : Narang et Gupta, 1979 ; discussion : Padhy et Nayak, 1984). L'hybridation entre les deux espèces a été réalisée par plusieurs chercheurs pour des considérations taxonomiques et pour déterminer l'étendue de la compatibilité chromosomique (Padhy et Nayak, 1984). Au cours d'une étude sur le mécanisme d'ajustement synaptique chez les générations F₁ des deux espèces, le besoin s'est fait sentir de connaître le caryotype au pachytène chez les deux espèces. Nous présentons ici le caryotype du complexe synaptonémal (CS) de *P. cynthia* et établissons la comparaison avec celui de *P. ricini*.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons utilisé des femelles de *Philosamia cynthia* récoltées à l'état sauvage. L'étalement de surface des CS provenant des ovaires et la mesure de la longueur relative des CS ont été décrites antérieurement (Bhagirath *et al.*, 1988).

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous avons observé 14 CS dans tous les noyaux du pachytène analysables (Fig. 1) avec un nombre de chromosomes diploïdes de 28. Les CS sont longs et normalement recourbés, incurvés ou en tandem ce qui rend difficile leur identification individuelle. Les plaques d'attachement sont distinctes chez tous les animaux étudiés jusqu'ici. Plusieurs structures en forme de chapelet sont présentes le long des CS. Au pachytène le nucléole est normalement absent ainsi que les organisateurs nucléolaires. Parfois un nucléole sphérique unique est attaché à un CS le divisant en deux bras dans une proportion d'environ 1:2 (cf. encadré). Les chromosomes Z et W ont exactement la même

longueur et forment un CS complet de télomère à télomère. Les chromosomes sexuels n'ont pu être identifiés chez aucune espèce de Lépidoptères étudiée jusqu'ici.

Le Tableau I présente la longueur relative moyenne des CS calculée à partir de cinq noyaux du pachytène. On observe une variation continue de la longueur du chromosome (CS n1 à CS n14). Les faibles écarts-type indiquent que la variation de la longueur entre les CS au sein d'un noyau particulier, est faible. Ces facteurs associés à l'absence de centromères reconnaissables et d'autres marqueurs tels que les nœuds, etc, rendent impossible l'identification des CS de longueur moyenne.

Le complément du CS au pachytène chez la femelle *P. ricini* (Bhagirath *et al.*, 1988) est similaire à celui observé chez *P. cynthia* en ce qui concerne plusieurs aspects. Chez les deux espèces, le nombre de chromosomes diploïdes est de 28, un bivalent nucléolaire est présent dans un complément diploïde. La longueur des CS est très voisine pour les deux espèces. La différence entre les moyennes des CS individuels correspondants n'est pas significative (P0,05).

Le comportement d'appariement des chromosomes parentaux dans les gonades des F₁ révèle un fort équilibre génétique entre les deux espèces (soumis pour publication). Le profil des bandes protéiques et le profil des bandes chromosomiques révéleront des différences entre les deux génomes.

BACTERIA INDUCED PROTEIN SYNTHESIS IN THE HAEMOLYMPH OF *BOMBYX MORI* LARVAE

S. MATHAVAN and A. VELPANDI School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, India.

Bacteria induced protein profile was observed by high resolution SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and fluorogram in the final instar larvae of the silkworm Bombyx mori. Fixed dose of Bacillus sphaericus was injected into the larvae and incubated for varying durations. Qualitative and quantitative changes were observed in the protein profile of the bacteria injected larva. In the haemolymph of the B. mori larvae, about 29 proteins were present. After the bacterial injection, 6 of the existing proteins showed quantitative change and five new proteins appeared with the molecular weight of 90, 60, 50, 23.65 and 22 Kd during the experimental period of 9-24 hrs. The rate of protein synthesis was studied in Bacillus injected larvae using 14(C)-aminoacids. There was almost a steady increase in the rate of protein synthesis in the larvae upto 12 hrs and thereafter it declined.

INTRODUCTION

Differential synthesis of bacteria induced proteins in lepidopterous larvae have already been reported (Hoffman *et al.*, 1981; Hughes *et al.*, 1983). Several of these are lysozymes (Chadwick, 1970; Powning and Davidson, 1973 & 1976). Other types of proteins namely Cecropins and Attacins have also been isolated and characterised (Boman *et al.*, 1974; Faye *et al.*, 1975; Steiner *et al.*, 1981; Hultmark *et al.*, 1980 & 1983; Hoffman *et al.*, 1981). Faye *et al.* (1975) reported that injection of bacteria in saturniid pupae induced the synthesis of a set of new proteins and they appeared in the haemolymph 6 hrs after injection. Hughes *et al.*, (1983) showed the differences in the bacteria induced proteins in the larvae and pupae of *Manduca sexta*. The present paper aims to analyse the general protein profile as well as the proteins induced by the bacteria in the haemolymph of *Bombyx mori* larvae. In addition, rate of synthesis of new polypeptides in the bacteria injected larvae has also been studied using 14(C)-aminoacids.

MATERIALS AND METHODS

Fifth instar larvae of *Bombyx mori* (TW x NB4D2) were obtained from Sericulture Research Extension Centre, Madurai. Bacterial injections were made with *Bacillus sphaericus* strain 2362.

Sample preparation:

Healthy fifth instar larvae were identified and separated into three groups (each containing five larvae): i) control (no injection), saline injected and ii) bacteria injected. The larvae in all the three groups were immobilized by cooling them in ice for 3-5 minutes prior to injection. In both injected groups, either sterile physiological saline or 25µg bacterial protein dissolved in 5µl of saline was injected with the help of microsyringe. Soon after the injection, the wound was sealed with a plug of beeswax-petroleum ether (1:4). The larvae were incubated for a period of 3, 6, 9, 12, 18 and 24 hrs. At the end of the incubation period haemolymph was collected in an ice cold test tube containing few crystals of phenylthiourea and centrifuged at 10 000 rpm for 10 minutes and the clear supernatant was drawn and used freshly.

In vivo labelling:

Ten μCi of ^{14}C Chlorella hydrolysate (obtained from BARC, Bombay) was injected into the haemolymph of the larvae. After the chosen incubation period of 3 hrs, haemolymph was collected from five individuals and pooled together. Radioactivity in the haemolymph was determined by precipitating 10 μl of the haemolymph with TCA to the final concentration of 10% and was incubated for 30 minutes at 4C. Then the sample was passed through millipore filter disk under suction. To remove free counts the filter was washed completely with 5% ice cold TCA and dried. Then the disks were placed in 5ml of scintillation mixture and the counts were monitored in Packard counter.

Electrophoresis: SDS-PAGE

Electrophoresis of the sample was carried out in 1.5 mm thick slabs of polyacrylamide gel containing 1% SDS (w/v). Each slab consisted of a stacking gel containing 3% acrylamide and a separating gel containing 5-18% acrylamide gradient. The buffers used were those described by Laemmli (1970). Sample protein (150 μg) was loaded in each slab. After electrophoresis the slabs were fixed in 10% TCA (w/v) for one hour at 4C and stained for 3 hrs in 0.25% Coomassie blue in ethanol-acetic acid-water (50:7:43) and destained by the above solution without Coomassie blue.

Fluorography:

The stained polyacrylamide gel slabs in which polypeptides labelled with ^{14}C -amino acid mixture were impregnated with PPO and exposed at -70 C to an X-ray film (Bonner and Laskey, 1974). After developing the film the fluorograms were photographed.

Molecular weight determination:

The molecular weights of the proteins were determined according to Weber and Osborn (1959). The molecular weight of marker proteins were plotted in log scale against the electrophoretic mobilities of the proteins. The proteins interested were plotted on the same graph and the molecular weights were determined. The molecular weight markers used were: BSA (68 000), Ovalbumin (45 000), Lysozyme (14 500) and Cytochrome C (12 500). All chemicals were obtained from Sigma Chemicals.

Quantification of induced proteins:

Quantification of induced proteins in fluorogram was done by scanning the negative using ultrascaner. The peak height, area and relative area of the induced proteins were obtained from the ultrascaner.

RESULTS

The Figure 1 shows the protein profile of the haemolymph drawn from the control and bacteria injected larvae. A total of 29 bands are easily detected in the Coomassie blue stained gel (not shown here) as well as in the fluorogram and their molecular weights range from 145 to 13 Kd. When the control and bacteria injected larval haemolymph are compared, several differences are clearly seen. Further analysis of the protein profile indicate that the changes may fall in either one of the two categories i.e. qualitative or quantitative. Proteins with the molecular weight of 98, 47, 40, 37.5, 28 and 20.5 Kd were found in the control larval haemolymph and the induction/reduction of these proteins in the bacteria injected larvae refer to their change in quantity; whereas 90, 60, 50, 23.5 and 22 kd proteins were present only in the bacteria treated individuals and these changes are qualitative. Observations of induced proteins after different hours of treatment lead to infer that these are time specific in their appearance and/or disappearance as well as in their quantitative changes. Induction of most of these proteins except 40 and 20.5 Kd, could be clearly seen after 9 hrs and increased their intensity at 24th hr.

Effect of bacteria on protein synthesis:

Treatment of larvae with bacteria resulted in the stimulation of synthesis of new proteins. Figure 2 shows the rate of protein synthesis in the control and treated larvae. Rate of protein synthesis increased gradually and reached the maximum at 12th hr and thereafter it started declining. The maximum incorporation was six times more than the control.

Figure 3 shows scanning of the protein profile of the fluorogram using an ultrascaner. The lanes taken for comparison are control, 9, 12, and 24 hrs after treatment. The peak height, total area and

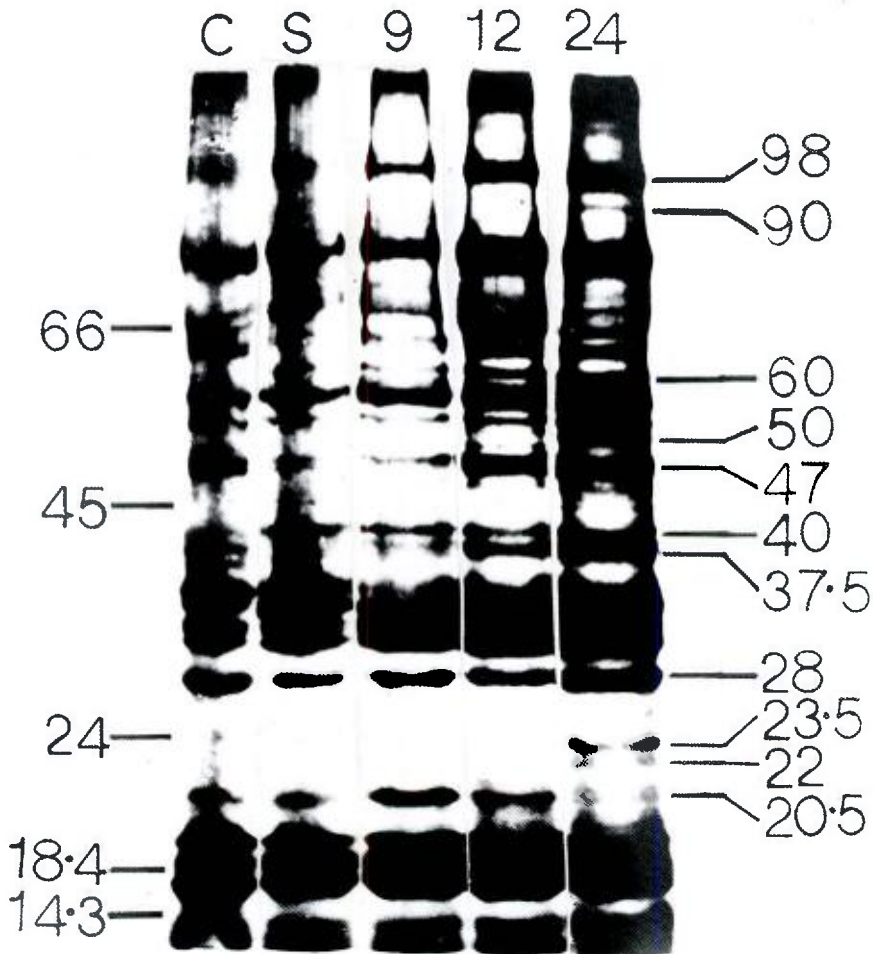


Fig. 1. Fluorogram of ^{14}C -aminoacid labelled haemolymph proteins.

Fig. 1. Fluorogramme des protéines de l'hémolymph marquées par les acides aminés ^{14}C .

Samples are from Control (lane C); Saline injected (lane S), 9, 12, and 24 hrs after bacterial injection (lanes 9, 12 and 24 respectively). The gel was 1.5 mm thick, 5-18% linear gradient slab. Bacteria induced proteins are indicated by their molecular weights.

Les échantillons proviennent du lot témoin (C), du lot avec injection de sel (S), et des lots obtenus 9, 12 et 24 h après l'injection bactérienne (colonnes 9, 12 et 24). Le gel d'une épaisseur de 1,5 mm est constitué d'un gradient linéaire (5-18 %) de polyacrylamide. Les protéines induites par les bactéries sont indiquées par leur poids moléculaire.

relative area of all the induced proteins are shown in Table I. The induction/reduction of the proteins are clearly shown in all the parameters and the relative area of each band is expressed in percentage.

Figure 4 shows the change in peak height of 98, 90, 50, 47 and 20.5 Kd proteins after different hours of bacterial injection. Among the newly synthesised proteins, 90 and 50 Kd proteins show a gradual increase from control and reaches the maximum at 24th hr, whereas the 20.5 Kd protein shows a maximum at 9th hr and subsequently it starts declining.

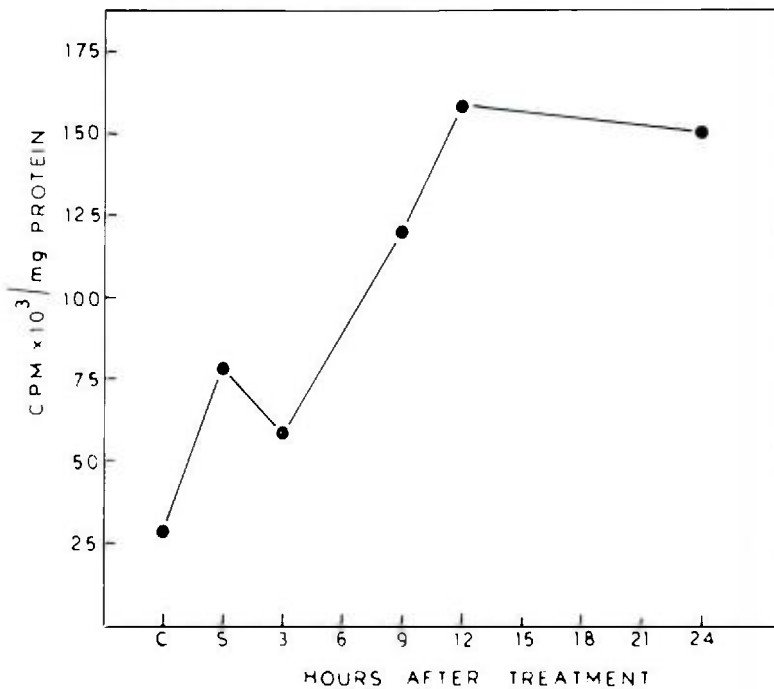


Fig. 2. Incorporation of ^{14}C -aminoacids in the acid precipitable larval haemolymph proteins during different hours of bacterial injection.

Fig. 2. Incorporation des acides aminés ^{14}C dans les protéines précipitables à l'acide de l'hémolymph larvaire au cours des différentes heures suivant l'injection bactérienne.

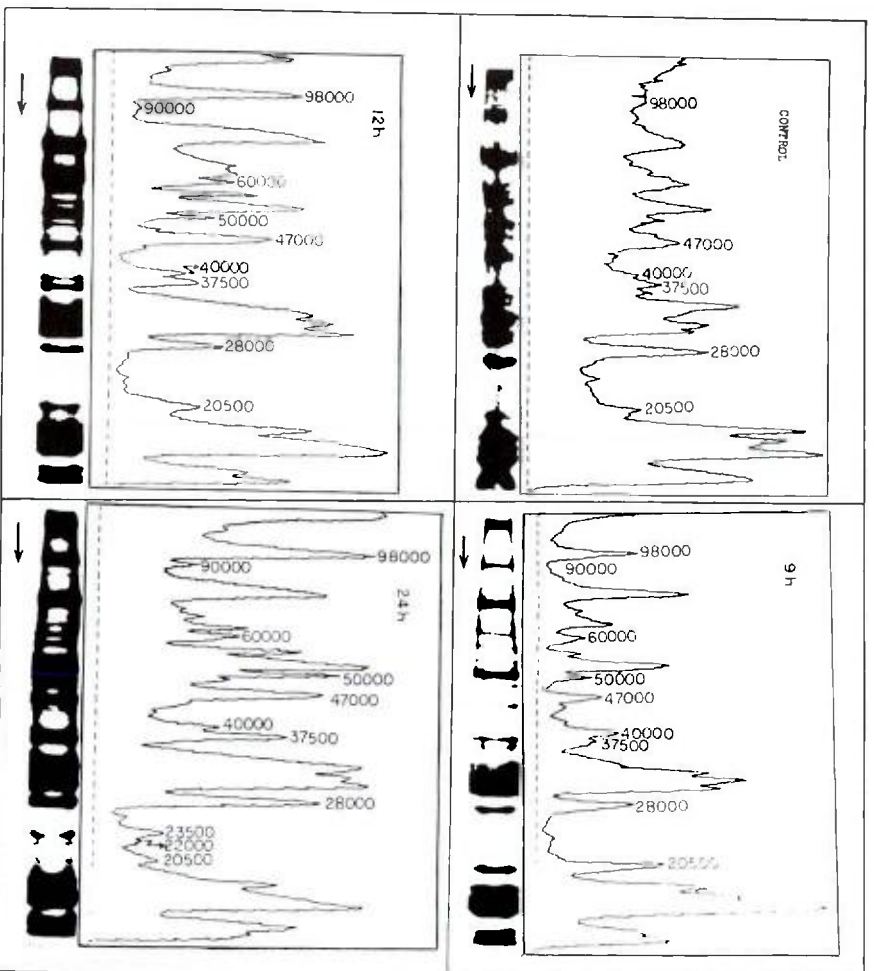


Fig. 3. Densitometer scanning profile of the fluorogram shown in Fig. 1.

Fig. 3. Profil densitométrique du fluorogramme de la Figure 1.

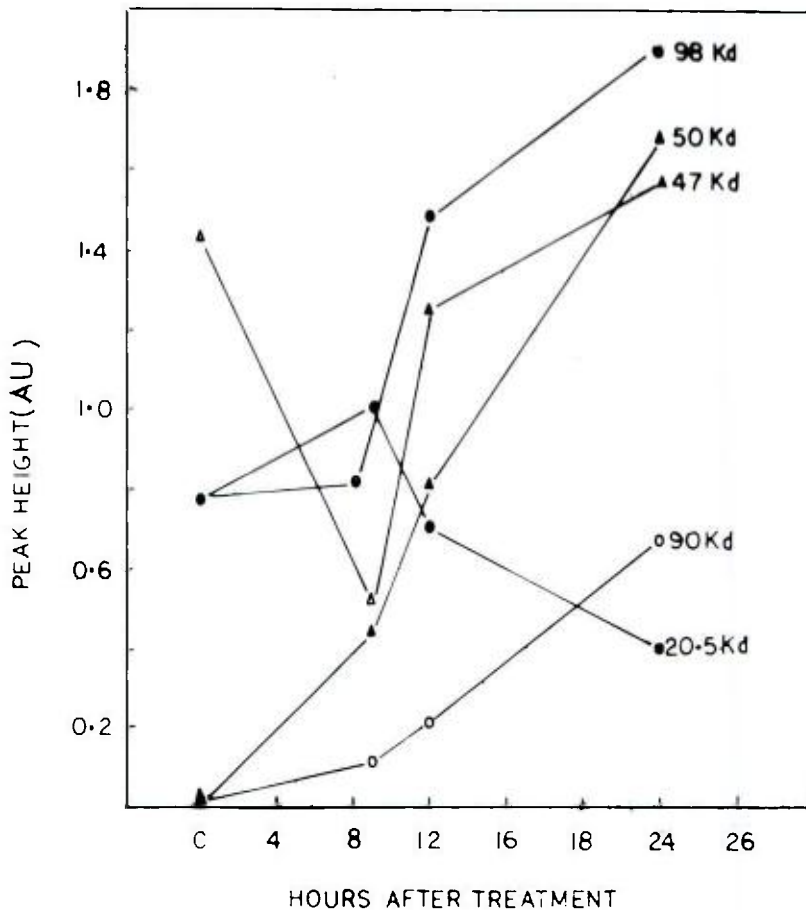


Fig. 4. Changes in peak height of the bacteria induced proteins after different hours of treatment. The data for the graph were obtained from the ultrascan of the lanes in the fluorogram shown in Fig. 3 and from Table I.

Fig. 4. Variations de la hauteur maximale du pic d'induction des protéines bactériennes. Les valeurs utilisées ont été obtenues par balayage densitométrique du fluorogramme de la Figure 3 et à partir du Tableau I.

Mol. w <i>Pds mol</i>	Peak height (AU) <i>Hauteur du pic(AU)</i>				Area (AU x mm) <i>Surface (AU x mm)</i>				Relative area (%) <i>Surface relative (%)</i>			
Kd	C	9	12	24	C	9	12	24	C	9	12	24
98	0.78	0.81	1.47	1.88	1.21	2.28	2.68	3.83	1.0	3.3	2.7	3.1
90	-	0.11	0.21	0.67	-	0.18	0.37	1.87	-	0.3	0.4	1.5
60	-	0.39	0.97	0.97	-	0.61	1.43	1.72	-	0.9	1.4	1.4
50	-	0.44	0.81	1.68	-	0.86	1.40	3.33	-	1.2	1.4	2.7
47	0.93	0.52	1.25	1.57	4.52	0.84	2.42	3.55	3.7	1.2	2.4	2.8
40	0.91	0.63	0.57	0.86	3.70	1.67	0.72	1.73	3.0	2.4	0.7	1.4
37.5	0.65	0.47	0.68	1.27	2.76	0.88	1.26	2.41	2.3	1.3	1.2	1.9
28	1.22	0.78	0.88	1.56	2.42	1.95	2.61	2.62	2.0	2.8	2.6	2.1
23.5	-	-	-	0.47	-	-	-	1.09	-	-	-	0.9
22	-	-	-	0.35	-	-	-	0.47	-	-	-	0.4
20.5	0.77	1.02	0.70	0.40	2.17	2.90	1.67	0.65	1.8	4.2	1.7	0.5

Table I. Summary of the ultrascan data for the bacteria induced proteins in the haemolymph of *B. mori* larvae.

Tableau I. Récapitulation des valeurs obtenues par densitométrie à balayage pour les protéines de l'hémolymph des larves de B. mori induites par des bactéries.

DISCUSSION

Insects are known to elicit humoral as well as cellular responses to encounter microbial injections. The humoral factors present in the haemolymph are attributed as lysozymal function to bacterial substances (Powning and Davidson, 1973 & 1976). The appearance of new proteins in the haemolymph of bacteria injected larvae may have been the result of protein synthesis which gives rise to antibacterial activity. Differential synthesis of inducible proteins in the larvae and pupae of *M. sexta*, *Hyalophora cecropia* and *Samia cynthia* were reported earlier (Faye et al., 1975; Hultmark et al., 1980; Rupp and Spence, 1985).

Among the induced proteins 50, 47, and 37.5 Kd proteins showed the maximum synthesis in the bacteria injected larvae of *B. mori* at 24th hr after bacterial injection. Rasmuson and Boman (1979) reported that a single 48 Kd polypeptide was synthesised maximum in *H. cecropia* when administering the viable cells of *Enterobacter cloacae*. Similarly, Hughes et al. (1983) showed a maximum induction of 53 Kd protein in the bacteria injected *M. sexta*.

It may be true that, the proteins with the molecular weight of 45-53 Kd are synthesised to act against bacterial activity. Differentially induced synthesis of new proteins appear to resemble Cecropin like proteins and the lysozyme group. Information about the synthesis of Cecropin like proteins in *M. sexta* has been reported earlier (Hoffmann et al., 1981). A second group of six antibacterial proteins, termed "attacins" have also been characterized in *H. cecropia* (Lee et al., 1983; Hultmark et al., 1983). These proteins ranged in size from 20-23 Kd and a similar five proteins of M18 group having molecular weights of approx 20 Kd was observed in *M. sexta* larvae (Hurlbert et al., 1985). The amount of newly synthesised protein increases for a time and subsequently declines. Time taken for maximum synthesis of induced proteins vary from species to species (Gotz and Boman, 1985). In the present study the larvae of *B. mori* required a maximum of 12 hrs of incubation period to show maximum protein synthesis. In the case of silk moths *H. cecropia* and *Antheraea pernyi* the peak time was 7-8 days, while it was 4 days in *S. cynthia*. In all the cases activity gradually declined after the display of maximum level.

Administration of *B.phaericus* spores to the larvae of *B. mori* resulted in the qualitative and quantitative changes in the haemolymph proteins. About 11 bacteria induced proteins have been detected in the larvae. The induced humoral antibacterial defense in *B. mori* larvae is a multicomponent response which appears similar to that described in *H. cecropia* and *M. sexta* (Hultmark et al., 1983; Spies et al., 1986). Fat body has been established as the site of synthesis of several bacteria induced proteins in *H. cecropia* (Faye and Wyatt, 1980). This may be true in the case of larvae of *B. mori* also. Experiments are being carried out to trace the site of synthesis of the induced proteins.

ACKNOWLEDGEMENT

The author A.V. wishes to acknowledge CSIR and the author Dr. S.M. wishes to acknowledge ICMR, New Delhi for the financial assistance.

REFERENCES

- BOMAN H.G., NILLSON-FAYE I., RASMUSON T. (1974), Why is insect immunity interesting? In: Energy, biosynthesis and regulation in molecular biology. Richter D. Ed., 103-114. Walter de Gruyter, Berlin.
- BONNER W.M., LASKEY R.A. (1974), A film detection method for Tritium labelled proteins and nucleic acids in polyacrylamide gels. Eur. J. Biochem., 46, 83-88.
- CHADWICK J.S. (1970), Haemolymph changes with infection or induced immunity in insects and ticks. In: Invertebrate immunity. Maramorosch K., Shope R.E., Eds. 241-271. Academic Press, New York.

- FAYE I., PYE A., RASMUSON T., BOMAN H.G., BOMAN I.A. (1975), Insect immunity II. Simultaneous induction of antibacterial activity and selective synthesis of some haemolymph proteins in diapausing pupae of *Hyalophora cecropia* and *Samia cynthia*. Insect. Immunol., 12, 1426-1438.
- FAYE I., WYATT G.R. (1980), The synthesis of antibacterial proteins in isolated fat bodies from cecropia silk worm pupae. Experientia, 36, 1325-1326.
- GOTZ P., BOMAN H.G. (1985), Insect immunity. In: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Kerkut G.A., Gilbert L.I. Eds., vol 3, 453-486. Pergamon Press, England.
- HOFFMAN D., HULTMARK D., BOMAN H.G. (1981), Insect immunity: *Galleria* and other Lepidoptera have cecropia-P9 like factors active against gram negative bacteria. Insect Biochem., 11, 537-548.
- HUGHES J.A., HURLBERT R.E., RUPP R.A., SPENCE K.D. (1983), Bacteria induced haemolymph proteins of *Manduca sexta* pupae and larvae. J. Insect Physiol., 29, 625-632.
- HULTMARK D., STEINER H., RASMUSON T., BOMAN H.G. (1980), Insect immunity. Purification and properties of three inducible bacterial protein from haemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. Eur. J. Biochem., 106, 7-16.
- HULTMARK D., ENGSTROM A., ANDERSSON K., STEINER H., BENNICHI H., BOMAN H.G. (1983), Insect immunity. Attacins, a family of antibacterial proteins from *Hyalophora cecropia*. EMBO J., 2, 571-576.
- HULTMARK R.E., KARLINSEY J.E., SPENCE K.D. (1985), Differential synthesis of bacteria-induced proteins of *Manduca sexta* larvae and pupae. J. Insect Physiol., 31, 205-212.
- LAEMMLI U.K. (1970), Cleavage of the structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685.
- LEE J.Y., EDLAND T., NY T., FAYE I., BOMAN H.G. (1983), Isolation of cDNA clones corresponding to attacins and immune protein P4 from *Hyalophora cecropia*. EMBO J., 2, 577-581.
- POWNING R.F., DAVIDSON W.J. (1973), Studies on insect bacteriolytic enzymes. 1. Lysozyme in the haemolymph of *Galleria mellonella* and *Bombyx mori*. Comp. Biochem. Physiol., 45B, 669-686.
- POWNING R.F., DAVIDSON W.J. (1976), Studies on bacteriolytic enzymes. 2. Some physical and enzymatic properties of lysozyme from haemolymph of *Galleria mellonella*. Comp. Biochem. Physiol., 55B, 221-228.
- RASMUSON T., BOMAN H.G. (1979), Insect immunity V: Purification and some properties of immune protein P4 and haemolymph of *Hyalophora cecropia* pupae. Insect Biochem., 99, 259-264.
- RUPP R.A., SPENCE K.D. (1985), Protein alterations in *Manduca sexta* midgut and haemolymph following treatment with a sublethal dose of a *Bacillus thuringiensis* endotoxin. Insect Biochem., 15, 147-154.
- SPIES A.G., KARLINSEY J.E., KEMET D., SPENCE D. (1986), Antibacterial haemolymph proteins of *Manduca sexta*. Comp. Biochem. Physiol., 83, 125-133.
- STEINER H., HULTMARK D., ENGSTROM A., BENNICHI H., BOMAN H.G. (1981), Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. Nature, 292, 246-248.
- WEBER K., OSBORN N.C. (1969), The reliability of molecular weight determination by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem., 244, 4406-4412.

SYNTHESE DE PROTEINES INDUITE PAR UNE BACTERIE DANS L'HEMOLYPHE DE LA LARVE CHEZ *BOMBYX MORI*

S. MATHAVAN et A. VELPANDI, School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj
University, Madurai 625 021, Inde.

*Le profil des protéines induites par des bactéries a été observé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS à haute résolution et fluorographie chez les larves de **Bombyx mori** au 5ème âge. Une dose déterminée de **Bacillus sphaericus** est injectée aux larves avec différentes durées d'incubation. Les changements qualitatifs et quantitatifs du profil protéique sont observés chez des larves auxquelles a été injectée la bactérie. 29 protéines environ sont présentes dans l'hémolymph des larves de **B. mori**. Après l'injection bactérienne, six protéines existantes montrent un changement quantitatif et cinq nouvelles protéines apparaissent, d'un poids moléculaire de 90, 60, 50, 23,5 et 22 Kd au cours de la durée de l'expérience (de 9 à 24 h). Le taux de synthèse protéique est étudié chez les larves ayant subi l'injection de **Bacillus** au moyen d'acides aminés ¹⁴ (C). On observe une augmentation presque régulière du taux de synthèse protéique chez les larves pendant 12 heures suivie d'une diminution.*

INTRODUCTION

La synthèse différentielle de protéines induites par des bactéries chez les larves de Lépidoptères a déjà été décrite (Hoffman *et al.*, 1981; Hughes *et al.*, 1983). Plusieurs d'entre elles sont des lysozymes (Chadwick, 1970; Powning et Davidson, 1973 & 1976). D'autres types de protéines, les Cécropines et les Attacines, ont aussi été isolés et caractérisés (Boman *et al.*, 1974; Faye *et al.*, 1975; Steiner *et al.*, 1981; Hultmark *et al.*, 1980 & 1983; Hoffman *et al.*, 1981). Faye *et al.* (1975) ont observé que l'injection bactérienne chez les chrysalides de Saturniides induit la synthèse d'un groupe de nouvelles protéines qui apparaissent dans l'hémolymph 6 heures après l'injection. Hughes *et al.* (1983) ont observé des différences dans les protéines induites par bactérie chez les larves et les chrysalides de *Manduca sexta*. La présente étude a pour but l'analyse du profil protéique général ainsi que des protéines induites par bactérie dans l'hémolymph des larves de *Bombyx mori*. De plus, le taux de synthèse des nouveaux polypeptides chez les larves soumises à l'injection bactérienne a été étudié au moyen d'acides aminés radioactifs ¹⁴(C.)

MATERIEL ET METHODES

Nous avons obtenu des larves au 5ème âge de *Bombyx mori* (TW x NB₄D₂) du Sericulture Research Extension Centre, Madurai. Les injections bactériennes ont été faites avec la souche 2362 de *Bacillus sphaericus*.

Préparation des échantillons :

Les larves du 5ème âge saines ont été identifiées et divisées en trois groupes (chacun de 5 larves): lot témoin (pas d'injection), lot avec injection saline et lot avec injection bactérienne. Les larves des trois groupes ont été immobilisées en les plaçant dans de la glace pendant 3 à 5 minutes avant l'injection. Dans les deux lots injectés, l'injection d'une solution saline physiologique stérile ou de

25 µg de protéines bactériennes dissoutes dans 5 µl de solution saline est réalisée avec une microseringue. Peu après l'injection, la blessure est cicatrisée avec un morceau de cire d'abeille-éther de pétrole (1:4). Les larves sont placées en incubation pendant des périodes de 3, 6, 9, 12, 18 et 24 heures. A la fin de la période d'incubation, l'hémolymph est collectée dans un tube à essai glacé contenant quelques cristaux de phénylthiourée ; après centrifugation à 10 000 tours par mn pendant 10 minutes, le surnageant clair est récolté et utilisé rapidement.

Marquage *in vivo* :

10 µCi d'hydrolysate de chlorelle 14(C) (provenant du BARC, Bombay) sont injectés dans l'hémolymph des larves. Après la période d'incubation choisie de 3 heures, l'hémolymph de 5 individus est collectée et rassemblée. La radioactivité de l'hémolymph est déterminée en précipitant 10 µl d'hémolymph avec de l'acide trichloroacétique (concentration finale 10 %) et incubation pendant 30 mn à 4°C. L'échantillon est ensuite passé à travers un filtre millipore par aspiration. Pour éliminer les erreurs de comptage, le filtre est lavé complètement avec de l'ATC à 5 % glacé, puis séché. Ensuite les disques sont placés dans 5 ml d'un mélange pour scintillation et les comptages de radioactivité sont effectués par un compteur Packard.

Electrophorèse : SDS-PAGE

L'électrophorèse des échantillons est effectuée sur des plaques épaisses de 1,5 mm de gel de polyacrylamide contenant 1 % de SDS (poids/volume). Chaque plaque comprend un gel concentrateur contenant 3 % d'acrylamide et un gel séparateur contenant un gradient de 5-18 % d'acrylamide. Les tampons utilisés sont ceux décrits par Laemli (1970). Les protéines échantillonnées (150 µg) sont placées sur chaque ligne. Après l'électrophorèse les plaques sont fixées dans de l'ATC à 10 % (poids/volume) pendant une heure à 4°C et colorées pendant 3 heures dans une solution eau-acide acétique-éthanol (43:7:50) contenant 0,25 % de bleu de Coomassie et décolorées avec la même solution sans bleu de Coomassie.

Fluorographie :

Les plaques de gel de polyacrylamide colorées dans lesquelles les polypeptides sont marqués avec des acides aminés 14(C), sont imprégnées avec du PPO et radiographiées à -70°C à l'aide d'un film sensible aux rayons X (Bonner et Laskey, 1974). Après développement du film, les fluorogrammes sont photographiés.

Détermination du poids moléculaire :

Le poids moléculaire des protéines est déterminé selon la méthode de Weber et Osborn (1969). Le poids moléculaire des protéines marqueurs est positionné sur un graphique étalon sur une échelle logarithmique par rapport à leur mobilité électrophorétique. Les protéines concernées sont positionnées sur le même graphique et leur poids moléculaire est déterminé. Les marqueurs de poids moléculaire utilisés sont : BSA (68 000), Ovalbumine (45 000), Lysozyme (14 500) et Cytochrome C (12 500). Tous les composants chimiques utilisés ont été fournis par Sigma Chemicals.

Quantification des protéines induites :

La quantification des protéines induites est effectuée par balayage du négatif du fluorogramme en utilisant un ultrascanner. La hauteur des pics, la surface et la surface relative des pics des protéines induites sont obtenues par ultrascanner.

RESULTATS

La figure 1 montre le profil protéique de l'hémolymph chez le lot témoin et les larves soumises à injection bactérienne. Au total, 29 bandes sont facilement détectables par la coloration obtenue au bleu de Coomassie (non représentée ici) et sur le fluorogramme. Leurs poids moléculaires varient de 145 à 13 Kd. Lorsqu'on compare l'hémolymph du lot témoin avec celle du lot injecté, plusieurs différences apparaissent clairement. L'analyse du profil protéique montre que les changements peuvent être soit qualitatifs, soit quantitatifs. Les protéines de poids moléculaire 98,47, 40, 37,5, 28 et 20,5 Kd présentes dans l'hémolymph du lot témoin sont soit augmentées, soit réduites dans l'hémolymph des larves avec injection bactérienne, alors que les protéines avec un poids moléculaire de 90, 60, 50, 23,5 et 22 Kd sont présentes uniquement chez les individus traités par injection bactérienne. L'observation des protéines induites à différents moments après le traitement suggère que leur apparition et/ou disparition se fait en fonction du temps, comme les changements quantitatifs.

L'induction de la plupart de ces protéines, à l'exception de celles de 40 et 20,5 Kd, apparaît clairement après 9 heures et augmente d'intensité à la 24^{ème} heure.

Effet des bactéries sur la synthèse protéique :

Le traitement des larves par injection bactérienne entraîne la stimulation de la synthèse de nouvelles protéines. La figure 2 montre le taux de synthèse protéique chez les larves témoins et traitées. Le taux de synthèse protéique augmente progressivement pour atteindre son maximum à la 12^{ème} heure et commence à diminuer ensuite. L'incorporation maximum est six fois plus importante que chez le lot témoin.

La figure 3 montre le profil protéique du fluorogramme obtenu par balayage densitométrique. Les bandes considérées pour comparaison sont celles du lot témoin, de 9, 12 et 24 h après le traitement. La hauteur maximale, la surface totale et la surface relative du pic des protéines induites sont représentées dans le Tableau I. L'induction ou la réduction des protéines apparaissent clairement pour tous les paramètres et la surface relative de chaque bande est exprimée en pourcentage.

La figure 4 montre le changement de la hauteur du pic des protéines de 98, 90, 50, 47 et 20,5 Kd à différentes heures après l'injection bactérienne. Parmi les nouvelles protéines synthétisées, les protéines de 90 et 50 Kd augmentent progressivement par rapport aux témoins et atteignent leur maximum à la 24^{ème} heure alors que la protéine de 20,5 Kd atteint son maximum à la 9^{ème} heure et commence ensuite à diminuer.

DISCUSSION

On sait que les injections microbiennes provoquent chez les insectes des réponses humorales et cellulaires. Les facteurs humoraux présents dans l'hémolymphe sont considérés comme ayant une fonction lysozymale pour les substances bactériennes (Powning et Davidson, 1973 & 1976). L'apparition de nouvelles protéines dans l'hémolymphe des larves soumises à l'injection bactérienne est peut-être le résultat de la synthèse protéique qui donne lieu à une activité antibactérienne. La synthèse différentielle des protéines induites chez les larves et les chrysalides de *M. sexta*, *Hyalophora cecropia* et *Samia cynthia* a été décrite précédemment (Faye *et al.*, 1975; Hultmark *et al.*, 1980; Rupp et Spence, 1985).

Parmi les protéines induites, les protéines de 50, 47 et 37,5 Kd donnent la synthèse maximale à la 24^{ème} heure après injection bactérienne chez les larves de *B. mori*. Rasmuson et Boman (1979) ont observé qu'un polypeptide unique de 48 Kd est synthétisé chez *H. cecropia* après administration de cellules viables de *Enterobacter cloacae*. De la même manière, Hughes *et al.* (1983) ont décrit l'induction maximale d'une protéine de 53 Kd chez *M. sexta* soumis à injection bactérienne.

Il est peut-être vrai que les protéines ayant un poids moléculaire de 45 à 53 Kd soient synthétisées pour agir contre l'activité bactérienne. Cependant la synthèse des nouvelles protéines induites paraît semblable à celle des protéines du type Cécropine et du groupe lysozyme. Des informations ont été données sur la synthèse des protéines de type Cécropine chez *M. sexta* (Hoffman *et al.*, 1981). Un second groupe de six protéines antibactériennes, dénommées "attacines" a également été caractérisé chez *H. cecropia* (Lee *et al.*, 1983; Hultmark *et al.*, 1983). Ces protéines varient de 20 à 23 Kd et cinq protéines similaires du groupe M18 ayant des poids moléculaires d'environ 20 Kd ont été observées chez les larves de *M. sexta* (Hurlbert *et al.*, 1985). La quantité de protéines nouvellement synthétisées augmente pendant un moment et diminue ensuite. Le temps nécessaire à la synthèse maximum des protéines induites varie selon les espèces (Gotz et Boman, 1985). Dans notre étude, il a fallu 12 h d'incubation aux larves de *B. mori* pour donner une synthèse protéique maximum. Dans le cas des vers à soie *H. cecropia* et *Antheraea pernyi*, le pic d'induction se situe au 7^{ème}-8^{ème} jour, et au 4^{ème} jour chez *S. cynthia*. Dans tous les cas l'activité diminue progressivement après avoir atteint son niveau maximum.

L'administration de spores de *B. sphaericus* aux larves de *B. mori* entraîne des changements qualitatifs et quantitatifs chez les protéines de l'hémolymphe. Environ 11 protéines induites par la bactérie ont été observées chez les larves. Le système humoral de défense antibactérienne induite chez les larves de *B. mori* est une réponse à plusieurs composantes qui semblent être similaires à celles décrites chez *H. cecropia* et *M. sexta* (Hultmark *et al.*, 1983; Spies *et al.*, 1986). On a établi que le corps adipeux est le site de la synthèse de plusieurs protéines induites par bactérie chez *H.*

cecropia (Faye et Wyatt, 1980). C'est peut-être également vrai dans le cas des larves de *B. mori*. Des expériences sont en cours pour déterminer le site de la synthèse des protéines induites.

VARIATION IN COCOON CHARACTERS OF *ANTHRAEA ASSAMA* Ww DURING DIFFERENT SEASONS

A. BARAH, S.N. PHUKAN, and M.V. SAMSON, Regional Muga Research Station, Central Silk Board ; Govt. of India, MIRZA 781 125, ASSAM, India.

Golden yellow coloured muga cocoons are produced in North East India only. The muga silkworm, *Antheraea assama* Ww. is multivoltine in nature. Five to six cocoon crops are generally raised in a year. The cocoon produced in different seasons are not uniform in their commercial characters. The cocoon weight varies from 2.6-8.6 gm., shell weight from 0.20-0.76 gm., silk ratio percent from 4.7-10.5, the reelable single cocoon filament length from 221-556 metres and the sericin content ranges from 18-22% during different seasons. However, there is no marked difference in size of the silk bave.

Key words: *Antheraea assama*, muga silkworm, sericin, fibroin, reelable silk filament, denier.

INTRODUCTION

Muga silkworm *Antheraea assama* Ww. (Lepidoptera : Saturniidae) is a unique species of sericigenous insect secreting an unusual golden-yellow coloured lustrous silk. The local term "muga" is derived from the colour of the cocoon and silk yarn. The silkworm is endemic to North East India. Muga silkworm is polyphagous and multivoltine in nature, having 5-6 generations in a year, viz. December-February; March-April; May-June; June-July; August-September and October-November or, Jarua, Chotua, Jethua, Aherua, Bhodia and Kotia respectively as Assamese calendar in India (Chaudhury, 1981).

Muga cocoon is single shelled, oblong in shape, closed and reelable (Jolly M.S. *et al.*, 1979). Size of the cocoon ranges between 4.5-6 cm in length and 2.5-3 cm in diameter with a rudimentary peduncle and weighs 2.6-8.6 gm with 4.7-10.5% shell ratio. The cocoon characters vary extensively in different seasons (Thangavelu K. and A.K. Chakraborty, 1985). Hence, the reelable filament length of the cocoons varies also. The value of silk ratio percent gives a fair indication of the quantum of raw silk that can be reeled from cocoons. So far, there is no record of reelable single cocoon filament length and silk ratio percent values of muga cocoons produced in different seasons. Hence in the present study, these factors were investigated.

The natural silk fibre is composed of two brins of fibroin delivered from two silk glands of silkworm which are stuck together and covered by silk gum known as sericin. The amount of sericin varies in silk from 22-30% according to varieties of breeds of cocoons. Outer sericin layer of cocoon fibre is easily dissolved in hot water in case of mulberry cocoons (Krishnaswamy *et al.*, 1972). Sericin is soluble in weak alkali solution and in hot water. Fibroin is insoluble in hot water or, dilute alkali or acid. Fibroin can be heated up to 170° C for four hours without any change in its characters (Maxwell-Lefroy H., 1909).

In order to reel the cocoons for obtaining silk yarn, it is essential to remove certain amount of sericin and to soften the cocoon. The softened sericin makes the silk baves adhere together while under reeling. In case of mulberry cocoons, cooking the cocoons in hot water is sufficient to achieve the above requirement. Cooking muga cocoons in hot water will not soften the cocoons and hence it

is difficult to reel muga cocoons by this process. Generally, muga cocoons are cooked in dilute alkali solutions (Chaudhury, 1981). The amount of sericin loss in this process is not yet studied and hence the data is not available. In order to estimate the above, it is essential to know the total sericin content of muga cocoons. Data on sericin content is a primary requisite. As the quality of muga cocoons varies in different seasons, it is desirable to estimate the sericin content of muga cocoons of different seasons. Hence the present study was undertaken.

MATERIAL AND METHOD

Cocoons of muga silkworm reared on *Machilus Bombycina* King, were collected from two places of Upper Assam (Borahibari and Dhakuakhana) and two places of Lower Assam (Mirza & Boko) during different seasons. Hundred of cocoons from each locality during each season were considered for the experiments and cocoon weight, shell weight and silk ratio percent were determined as described by Krishnaswamy *et al* (1972). Another set of 100 cocoons collected from each season and each locality were stifled and stored for 10 days. For determining the reelable single cocoons filament length, the cocoons were boiled in 0.1 % Sodium Carbonate at 90°C for 15 minutes as recommended by RMRS Reeling section. After cooking the cocoons, the floss was removed by hand and reelable filament end was picked. These cocoons were reeled individually in hot water on a hand operated reel of one metre diameter and the length of the cocoon filament was calculated.

For estimation of sericin content in muga cocoons, muga cocoon shell of different seasons were dried in hot air oven at 70°C and cooled in dessicator. Heating and cooling was repeated until the shell weight becomes constant. For each replication, 50 gm. cocoon shell were weighed quickly and transferred into a clean cooking vessel. There were five replications for each brood. One litre of 0.3 % sodium carbonate solution was added and boiled for 45 minutes. The cocoon shell were squeezed and boiled again in same amount of 0.1 % sodium carbonate solution for 20 minutes. After squeezing, the shells were boiled in distilled water for 20 minutes. By this process sericin is completely removed. The cooked cocoon shell were washed in distilled water, squeezed and dried in hot air oven at 90°C for 12 hours. After cooling in a dessicator, constant weight was recorded, which indicate the fibroin content. The difference between shell weight and fibroin weight is the weight of sericin. 0.1% sulphuric acid is used to know the complete dissolution of sericin, where sericin show dark brown colour and fibroin become yellow in colour. Single colour indicate dissolution of sericin (Trotman, 1975).

RESULTS AND DISCUSSION

The data presented in Table 1 indicates that the weight of muga cocoons produced during Kotia (October-November) is significantly higher than the cocoons produced in other seasons. Low shell weight was recorded in Jarua (January-February) and Bhodia (August-September) when compared to other seasons. The highest shell weight was obtained during Kotia (October-November) and it was significantly higher than other seasons studied. Silk ratio percent obtained for commercial crop of Kotia and Jethua are superior to rest of the seed crops. For the various economic characters of the cocoon, commercial crop is superior to seed crop. This can be attributed to the favourable climatic condition and nutritive quality of leaves. The superiority of commercial crops over seed crops is well known (Chaudhury S.N., 1981; Thangavelu K. & S.N. Phukan, 1985).

Irrespective of the season denier did not show any variation. Sericin content of muga cocoon show distinct variation between seasons. Muga cocoons harvested during chotua season possess highest percentage of sericin (21.22%), whereas cocoons produced in Kotia exhibit lowest sericin content (18.24%).

The percentage of sericin and the weight of the cocoon are not significantly correlated. There is definite fluctuation in sericin content between different seasons. This variation will have direct influence on various reeling qualities of the cocoon produced in different seasons. Fibroin content is high in cocoon produced in Kotia when compared to other seasons. An increase in fibroin content is inversely proportional to the sericin content in a given season.

Season	Cocoon wt. (gm)	Shell wt. (gm)	Silk ratio per cent	Reelable single cocoon filament length (mtr.) longueur de bave filable (m)	Denier	Sericin percent	Fibroin percent
Saison	Poids de cocon (g)	Poids de la coque (g)			Denier	Sericine %	fibroïne %
Jethua (May-June)	6.55	0.56	8.5	440.0	5.6	19.52 (-0.6507NS)	80.48
Aherua (June-July)	4.87	0.35	7.1	366.4	5.6	19.30 (-0.1766NS)	80.70
Bhodia (Aug.-Sept.)	4.17	0.30	7.2	385.3	5.4	20.30 (-0.7218NS)	79.70
Kotia (Oct.-Nov.)	7.5	0.65	8.8	494.85	5.4	18.24 (0.5582NS)	81.76
Jarua (Dec.-Feb.)	4.04	0.29	7.05	330.6	5.4	18.72 (0.6418NS)	81.28
Chotua (Mar.-Apr.)	5.9	0.45	7.7	387.4	5.5	21.22 (0.2376NS)	78.78
C.D. 5(%)	0.55	0.04	0.47	29.07	-	0.57	0.57

(Figures in the parenthesis are the correlation values (r) between cocoon weight and sericin content).

(Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs de corrélation (r) entre le poids du cocon et le contenu en sérécine).

Table I. Cocoon character of muga silkworm, *Antheraea assama* Ww. during different seasons.

Tableau I. Caractères des cocons du ver à soie muga, *Antheraea assama* Ww., au cours des différentes saisons.

REFERENCES

- CHAUDHURY S.N. (1981), Muga Silk Industry, published by Director of Sericulture and Weaving, Assam, Guwahati, 35,36,82.
- JOLLY, M.S., S.K. SEN, T.N. SONWALKAR and G.K. PRASAD (1979), Non mulberry silks, FAO Agricultural Services Bulletin, 29, FAO, Rome, 123.
- KRISHNASWAMY S., N.R. MADHARAO, S.K. SURYANARAYANA and T..S. SUNDARAMURTHY (1972), Sericulture manual 3 - Silk Reeling - FAO Agricultural Services Bulletin 15/3, FAO, Rome, 19-38.
- MAXWELL-LEFROY H., (1909), Indian Insect Life : Today and tomorrow's printers and publishers, New Dehli, India, 487.
- THANGAVELU K. and A.K. CHAKRABORTY (1985), Annual Report, 1984-1985, Regional Muga Research Station, Mirza, India, 48, 134.
- THANGAVELU K. and S.N. PHUKAN (1985), A case study on the economics of muga culture (RMRS Bulletin N°1), Regional Muga Research Station, Mirza, India, 6.
- TROATMAN E.R. (1975) Dyeing & chemical technology of textile fibres, Charles Griffin & Co., Ltd. 5th Edition, 107-108.

VARIATIONS DES CARACTERES DU COCON AU COURS DES DIFFERENTES SAISONS CHEZ *ANTHERAEA ASSAMA* Ww

A. BARAH, S.N. PHUKAN et M.V. SAMSON, Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Govt. of India, MIRZA 781 125, ASSAM, Inde.

*Les cocons muga jaune d'or sont produits seulement dans l'est de l'Inde. Le ver à soie muga, *Antheraea assama* Ww est de nature polyvoltine. Cinq à six récoltes sont généralement effectuées chaque année. Les cocons produits aux différentes saisons ne sont pas uniformes au niveau de leurs caractères commerciaux. Le poids du cocon varie de 2,6 - 8,6g, le poids de la coque de 0,20 - 0,76g, le pourcentage de soie de 4,7 - 10,5, la longueur de fil dévidable par cocon de 221 - 556 mètres et le contenu en sérécine de 18 - 22 % pendant les différentes saisons. Pourtant, il n'y a pas de différence marquée quant à l'épaisseur de la bave de soie.*

INTRODUCTION

Le ver à soie *Antheraea assama* Ww (Lepidopera : Saturniidae) est une espèce unique d'insecte séricigène sécrétant une soie inhabituelle de couleur jaune doré. Le terme local "muga" est dérivé de la couleur du cocon et du fil de soie. Le ver à soie muga est polyphage et polyvoltin ; il a cinq ou six générations par année, à savoir décembre-février, mars-avril, mai-juin, juin-juillet, août-septembre et octobre-novembre, soit Jarua, Chotua, Jethua, Aherua, Bhodia, Kotia respectivement, suivant le calendrier d'Assam en Inde (Chaudhury, 1981).

Le cocon muga est fait d'une seule coque, de forme oblongue, fermé et dévidable (Jolly M.S. *et al.*, 1979). La taille du cocon varie de 4,5 à 6 cm en longueur et de 2,5 à 3 cm en diamètre; il possède un pédoncule rudimentaire et pèse de 2,6 - 8,6 g ; la richesse soyeuse va de 4,7 - 10,5 %. Les caractères du cocon varient énormément d'une saison à l'autre (Thangavelu K. et A.K. Chakraborty, 1985). De ce fait, la longueur de fil varie également. La richesse soyeuse donne une indication juste de la quantité de soie grège qui peut être obtenue. Jusqu'à maintenant, aucune étude n'a été faite sur la variation de longueur de fil dévidable par cocon et sur le pourcentage de soie des cocons muga aux différentes saisons. Aussi, ces facteurs sont étudiés dans cette étude.

Le fil naturel est composé de deux brins de fibroïne émis par les deux glandes séricigènes du ver à soie; ils sont collés entre eux et couverts d'une gomme appelée sérécine. La quantité de sérécine contenue dans la soie varie de 22-30 % selon les variétés de cocons. La couche extérieure de sérécine des cocons de mûrier est facilement dissoute dans de l'eau chaude (Krishnaswamy *et al.*, 1972). La sérécine est soluble dans une solution alcaline faible et dans l'eau chaude. La fibroïne est insoluble dans l'eau chaude ou dans l'acide ou l'alcali dilué. La fibroïne peut être chauffée jusqu'à 170°C pendant quatre heures sans qu'il y ait changement de ses caractères (Maxwell - Lefroy H., 1909).

Pour dévider et obtenir le fil de soie, il est essentiel d'éliminer une certaine quantité de sérécine et d'amollir le cocon. La sérécine amollie permet aux baves de soie d'adhérer entre elles pendant le dévidage. Dans le cas de cocons du mûrier, ce résultat est obtenu simplement par cuisson des cocons dans de l'eau très chaude. Cette cuisson dans de l'eau très chaude ne permet pas l'amollissement des cocons muga, aussi, il est difficile d'utiliser ce procédé. En général, les cocons muga sont cuits dans des solutions alcaline diluées (Chaudhury, 1981). La quantité de sérécine perdue par ce procédé n'a pas encore été étudiée ; nous ne disposons donc d'aucun résultat. Pour en faire une estimation, il faut connaître le contenu total en sérécine d'un cocon muga. La mesure du contenu en sérécine est donc le premier impératif. Comme la qualité des cocons varie suivant les saisons, il serait souhaitable

d'évaluer le contenu en sérécine des cocons muga aux différentes saisons. C'est pourquoi, nous avons entrepris cette étude.

MATERIEL ET METHODE

Les cocons muga des vers à soie élevés sur *Machilus Bombycina* King sont récoltés dans deux régions du Bas Assam (Mirza et Boko) pendant les différentes saisons. Nous avons étudié cent cocons provenant de chaque région, pris aux différentes saisons et nous avons évalué le poids du cocon, le poids de la coque soyeuse et la richesse soyeuse, suivant la méthode de Krishnaswamy *et al.* (1972). D'autres lots de 100 cocons récoltés chaque saison dans chaque région ont été étouffés et conservés pendant 10 jours. Pour déterminer la longueur du fil de bave d'un cocon, les cocons sont cuits dans du Carbonate de sodium à 1% à 90°C pendant 15 minutes comme il est recommandé par la RMRS Reeling Section. Après la cuisson, la blaze est retirée manuellement et l'extrémité du fil de soie saisie. Ces cocons sont dévidés individuellement dans de l'eau chaude sur une machine à dévider manuelle de un mètre de diamètre et la longueur du fil dévidé est mesurée.

Pour effectuer l'estimation du contenu en sérécine des cocons muga, les coques soyeuses muga prises aux différentes saisons sont séchées dans un four chaud à 70°C et refroidies dans un dessiccateur. Elles sont chauffées puis refroidies jusqu'à ce que le poids de la coque devienne constant. Pour chaque replication, 50 g de coque soyeuse sont pesées rapidement et transférées dans un plat propre. Cinq replications sont effectuées pour chaque élevage. On y ajoute une solution de carbonate de sodium à 0,3% et on laisse bouillir pendant 45 minutes. La coque soyeuse est ensuite pressée et mise à bouillir encore une fois dans une même quantité d'une solution de carbonate de sodium à 0,1% pendant 20 minutes. Après avoir été pressées, les coques sont mises à bouillir dans de l'eau distillée pendant 20 minutes. Grâce à ce procédé, la sérécine est totalement éliminée. Les coques cuites sont lavées dans de l'eau distillée, pressées et séchées à l'air chaud dans un four à 90°C pendant 12 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons enregistré un poids constant, qui donne le contenu en fibroïne. La différence entre le poids de la coque et le poids de fibroïne indique le poids de sérécine. On utilise 0,1% d'acide sulfurique pour repérer la dissolution totale de la sérécine, celle-ci devient alors brun foncé et la fibroïne jaune. Une seule couleur indique la dissolution totale de la sérécine (Troatman, 1975).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans le tableau I indiquent que le poids des cocons muga élevés pendant Kotia (octobre-novembre) est significativement plus élevé que le poids des cocons produits à d'autres saisons. Le poids de la coque enregistré en Jarua (janvier-février et Bhodia (août-septembre) est plus faible que celui de Kotia (octobre-novembre) et il est significativement plus élevé que celui des autres saisons étudiées. Le pourcentage de soie obtenu pour les récoltes commerciales de Kotia et Jothua est supérieur à celui des autres récoltes. En ce qui concerne les divers caractères économiques du cocon, la récolte commerciale est supérieure à la récolte de grainage. On peut l'expliquer par des conditions climatiques favorables et la bonne qualité nutritive des feuilles. La supériorité des récoltes commerciales par rapport aux récoltes de graines est bien connue (Chaudhury S.N., 1981 ; Thangavelu K. et S.N., Ophukan, 1985).

Le denier est indifférent aux saisons et ne donne aucune variation. Le contenu en sérécine du cocon muga est soumis à des variations marquées suivant les saisons. Les cocons muga récoltés pendant la saison Chotua possèdent un pourcentage plus élevé en sérécine (21,22 %), alors que les cocons produits en Kotia ont le contenu en sérécine le plus pauvre (18,24 %).

Le pourcentage en sérécine et le poids du cocon ne sont pas significativement corrélés. Il y a une fluctuation certaine dans le contenu en sérécine entre les différentes saisons. Cette variation influe directement sur les différentes qualités de dévidage du cocon produit aux différentes saisons. Le contenu en fibroïne est le plus élevé chez les cocons produits en Kotia. L'augmentation en fibroïne est inversement proportionnelle au contenu en sérécine pour une saison donnée.

INFLUENCE OF CONDENSED TANNINS ON COCOON YIELD IN OAK TASAR SILKWORM REARING ON *QUERCUS INCANA* ROXB.

R.K. BAHIL and R.K. PANDEY Central Tasar Research and Training Institute, Research Extension Centre, Bir 176 077, Himachal Pradesh, India.

*In view of proposed introduction in western Himalaya of the interspecific hybrid *Antheraea proylei* Jolly, the larvae of which feed on different oak species and produce tasar silk of good quality, observations on its survival were taken on the leaves of *Quercus incana* Roxb. The level of condensed tannins increased from about 0.2% dry wt. in 5-7 day old leaves to about 2.6% dry wt. in 35-37 day old leaves. Simultaneously, survival of *A. proylei* larvae was adversely affected. Rearing results of 1981 to 1984 also revealed that the worms which were brushed in synchronization with sprouting in previously defoliated trees, provided maximum yield of cocoons. It appears, therefore, that due to 13 times increase in condensed tannins within 35 days of growth of leaves, it would be impossible to obtain successful *A. proylei* cocoon crop on *Q. incana*, unless the rearings are preponed.*

INTRODUCTION

Commencing with Feeny's classic investigation of the inhibiting effects of oak leaf tannins on larval growth (Feeny, 1968; 1970), a series of papers (Chan *et al.*, 1978; Bernays *et al.*, 1981; Martin and Martin, 1982; Martin *et al.*, 1985) has appeared shaping contemporary views concerning the significance of these substances in plant-herbivore interactions. In this study we have pointed out the inhibitory influence of condensed tannins in oak silkworm rearing on *Quercus incana* Roxb.

MATERIAL AND METHODS

Quercus incana Roxb. (which has been classified as *Q. leuchotrichophora* A. Camus by the criteria of Bahadur, 1975) is the commonest evergreen oak in the hills of western Himalaya. This oak usually grows gregariously, sometimes forming pure forests of considerable extent. This work was carried out at Shahpur (823 ASL), where young shoots appear in *Q. incana* from the middle of March and the time of sprouting varies from year to year owing to climatic causes. However, manual defoliation of shoots during preceding winter leads to early sprouting at the end of February. This defoliation technique was resorted to see the effect of preponement of oak tasar silkworm rearing. Freshly prepared disease free layings of *Antheraea proylei* (Jolly *et al.*, 1969) were reared in two batches. The first batch of larvae was brushed soon after sprouting in defoliated trees. Another batch was released after some days, when natural sprouting occurred in the forest. The rearing performance of both batches was compared. The worms were reared domestically on cut shoots as already reported (Bahl *et al.*, 1985).

Tannins were estimated in the leaves collected from a marked tree over a period of 35 days after sprouting. One batch of worms was simultaneously reared on the leaves of the same tree. After plucking, the leaves were immediately dried at 50C in hot air oven and were ground into fine powder. Each sample of 60 mg milled leaves was extracted as described by Martin and Martin (1982). These extracts were analyzed for condensed tannins using vanillin assay (Deshpande and Cheryan, 1985).

Leaf age (days)/	Condensed tannins (mg catechin equivalent per g dry leaf)/	Larval survival %/
Age de la feuille (jours)	Tannins condensés (mg de catéchine par g de pds sec de la feuille)	Taux de survie larvaire (%)
5-7	2.44	100
15-17	8.93	80.0
25-27	13.79	30.0
35-37	26.61	05.0

Table I. Time course of condensed tannins synthesis and effect on larval survival.

Tableau I. Synthèse des tannins condensés et effet sur la survie des larves

RESULTS

Influence of condensed tannins:

Quercus incana leaves collected after sprouting at different days of growth showed remarkable increase in condensed tannins (Table I). Initially, when the leaves were 5-7 day old, the amount of condensed tannins was only 0.2% (2.44 mg catechin equivalent/g dry leaf) and the worms brushed were feeding without any mortality. However, after 25-27 days of leaf growth, the condensed tannins increased upto 1.37% and considerable number of worms died during this period. The mortality of worms was proportional with the increase in the content of condensed tannins. Thus, increased concentration of condensed tannins beyond 2.44 mg catechin equivalent/g dry leaf appeared to be toxic for oak tasar silkworm, *A. proylei*.

Effect of preponement of rearing

Leaf sprouting in *Q. incana* trees, which were manually defoliated during winter occurred nearly a fortnight earlier than natural sprouting in the Shahpur range. Thus, brushings were undertaken on newly sprouted leaves in two batches within a period of 15 to 6 days during 1981-1984.

It can be seen from Table II that preponed brushings provided best effective rate of rearing and maximum yield of cocoons. The second batches almost always showed poor yield of cocoons. Inhibition of growth by condensed tannins may thus be one of the factors causing mortality of *A. proylei* larvae as shown in Table I

Year/ <i>Année</i>	Date of brushing/ <i>Date de la levée</i>	No of Dfls/ <i>Nbre de pontes</i>	Hatching %/ <i>% éclosion</i>	No of worms brushed/ <i>Nbre larves levées</i>	No of cocoons harvested/ <i>Nbre cocons récoltés</i>	E.R.R. %/ <i>Taux effectif d'élevage</i>	Yield per laying/ <i>Rendement par ponte</i>
1981							
I	Feb. 23-25	190	79.5	10 121	8 506	84.4	45
II	Mar. 08-11	15	67.66	680	510	75.0	34
1982							
I	Mar. 13-15	405	74.00	24 019	12 610	52.50	31
II	Mar. 25-27	309	61.04	15 203	906	5.95	03
1983							
I	Mar. 11-13	50	29.3	1 285	925	74.29	18
II	Mar. 17-19	745	35.0	21 572	7 255	33.63	09
1984							
I	Mar. 04-06	100	52.8	5 500	5 400	98.1	54
II	Mar. 10-12	3 023	37.7	127 594	61 236	47.99	20

Table II. Year wise rearing performance of *Antheraea proylei* on *Quercus incana* at Shahpur (823 m ASL).

Tableau II. Performance d'élevage de Antheraea proylei sur Quercus incana à Shahpur (823 m d'altitude) par année.

DISCUSSION

In view of the polyphenolic nature of condensed tannins (Haslam, 1966) and the acknowledged ability of many phenols to form complexes with proteins and to inhibit the action of enzymes (Pridham, 1963), it seems that the most likely explanation for the inhibition of *A. proylei* growth by condensed tannins may involve interference with the ability of the larvae to digest leaf protein. The ingestion of tannins has been shown to interfere with normal growth and development in many foliage

feeding insects (Bernays, 1981). Their allelochemic activity is considered to arise primarily from the formation of insoluble tannin-protein complexes during the mastication of leaves, thus denying substrate to proteolytic enzymes in the gut (Feeny, 1969).

Conversely, it has also been proposed that in some insects the allelochemic effects of tannins could be moderated by the high pH of the midgut and surfactants (Martin *et al.*, 1985). However, basic biochemical evidence is lacking to support the hypothesis that high midgut pH can be of adaptive significance to overcome the deleterious effects of tannins in oak feeding insects.

Results of the present work are in conformity with Feeny's observations on *Quercus robur* L. where tannin content has been reported to increase from 0.5% of leaf dry wt. in April to nearly 5.0% of leaf dry wt. in September (Feeny and Bostock, 1968). Thus, preponement of *A. proylei* rearing on *Q. incana* as shown in this work is found useful in achieving maximum yield of cocoons. This would make possible the commercialization of oak tasar culture in north-west India.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Dr. H.P.S. Makkar, Scientist, Indian Veterinary Research Institute, Regional Station, Palampur, for help in estimation of condensed tannins.

REFERENCES

- BAHADUR K.N. (1975), A name change for *Quercus incana* Roxb. is inevitable. Indian Forester, 101(1), 99-102..
- BAHL R.K., SENGUPTA K., TIKOO B.L., PANDEY R.K., RAO P.R.T. (1985), Altitudinal effects on domestic rearing of oak tasar *Antheraea proylei* J. silkworms in western Himalayas. Sericologia, 25(1), 55-61.
- BERNAYS E.A. (1981), Plant tannins and insect herbivores: an appraisal. Ecol. Entomol., 6, 353-360.
- BERNAYS E.A., CHAMBERLAIN D.J., LEATHER E.M. (1981), Tolerance of acridids to ingested condensed tannins. J. Chem. Ecol., 7, 247-256.
- CHAN B.G., WAISS A.C., LUKEFAHR M. (1978) Condensed tannin, an antibiotic chemical from *Gossypium hirsutum*. J. Insect Physiol., 24, 113-118.
- DESIIPANDE S.S., CHERYAN M. (1985), Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. J. Food Sci., 50(4), 905-910.
- FEENY P.P. (1968), Effect of oak leaf tannins on larval growth of the winter moth *Operophtera brumata*. J. Insect Physiol., 14, 805-817.
- FEENY P.P. (1969), Inhibitory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypsin. Phytochemistry, 8, 2119-2126.
- FEENY P.P. (1970), Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. Ecology, 51, 565-581.
- FEENY P.P., BOSTOCK H. (1968), Seasonal changes in the tannin content of oak leaves. Phytochemistry, 7, 871-880.
- HASLAME E. (1966), Chemistry of vegetable tannins. Academic Press, London, New York.
- JOLLY M.S., NARASIMHANNA M.N., SINHA S.S., SEN S.K. (1969), Interspecific hybridization in *Antheraea*, Indian J. Heredity, 1, 45-48.
- MARTIN J.S., MARTIN M.M. (1982), Tannin assays in ecological studies: lack of correlation between phenolics, proanthocyanidins and protein-precipitating constituents in mature foliage of six oak species. Oecologia (Berl), 54, 205-211.
- MARTIN M.M., ROCKHOLM D.C., MARTIN J.S. (1985), Effects of surfactants, pH, and certain cations on precipitation of proteins by tannins. J. Chem. Ecol., 11(4), 485-494.
- PRIDHAM J.B. (editor) (1963), Enzyme chemistry of phenolic compounds. Macmillan Press, New York.

INFLUENCE DES TANNINS CONDENSES SUR LE RENDEMENT EN COCONS DU VER A SOIE DU CHENE ELEVE SUR *QUERCUS INCANA* ROXB.

R.K. BAHIL et R.K. PANDEY Central Tasar Research and Training Institute, Research Extension Centre, Bir 176 077, Himachal Pradesh, Inde.

*Afin de développer dans la partie occidentale de l'Himalaya l'élevage de l'hybride interspécifique *Antheraea proylei* Jolly dont les larves se nourrissent de différentes variétés de chêne et produisent une soie tussah de bonne qualité, nous avons observé leur taux de survie sur les feuilles de *Quercus incana* Roxb. Le taux de tannins condensés passe de 0,2 % du poids sec chez les feuilles âgées de 5-7 jours à environ 2,6 % du poids sec chez les feuilles âgées de 35-37 jours. Parallèlement la survie des larves de *A. proylei* est affectée. Les résultats d'élevages de 1981 à 1984 montrent que les vers à soie, dont la levée a été synchronisée avec le débourrement chez des arbres ayant subi une défoliation antérieurement, donnent un rendement en cocons maximum. Il apparaît donc que, en raison de l'augmentation des tannins condensés qui sont multipliés par 13 en 35 jours de croissance des feuilles, il serait impossible d'obtenir une bonne récolte de cocons *A. proylei* sur *Q. incana*, à moins que l'on avance la date d'élevage.*

INTRODUCTION

A la suite de l'étude de Feeny sur les effets inhibiteurs des tannins de la feuille de chêne sur la croissance larvaire (Feeny, 1968; 1970), une série d'articles est apparue sur le rôle de ces substances dans les interactions plante-herbivore (Chan *et al.*, 1978; Bernays *et al.*, 1981; Martin et Martin, 1982; Martin *et al.*, 1985). Nous avons étudié l'influence inhibitrice des tannins condensés lors de l'élevage du ver à soie du chêne sur *Quercus incana* Roxb.

MATERIEL ET METHODES

Quercus incana Roxb. (classifié *Q. leuchotrichophora* A. Camus par les critères de Bahadur, 1975) est le chêne vert le plus commun dans la partie ouest de l'Himalaya. Ce chêne pousse de façon grégaire, formant parfois des forêts d'essence unique importantes. Notre étude a été faite à Shahpur (823 m d'altitude). Les jeunes pousses de *Q. incana* apparaissent à partir de la mi-mars et la date de débourrement varie d'une année à l'autre à cause du climat. Cependant la défoliation manuelle des rameaux au cours de l'hiver précédent provoque un débourrement précoce à la fin février. Cette méthode de défoliation a été suivie pour étudier les effets de l'élevage précoce du ver à soie du chêne. Des pontes saines de ver à soie *Antheraea proylei* (Jolly *et al.*, 1969) sont élevées en deux lots. La levée du premier lot de larves est effectuée aussitôt après le débourrement des arbres défoliés. La levée de l'autre lot est effectuée quelques jours après, lors du débourrement naturel en forêt. Les performances d'élevage des lots sont comparées. Les vers à soie sont élevés sur des rameaux coupés comme décrit antérieurement (Bahl *et al.*, 1985).

Les tannins sont évalués sur les feuilles d'un arbre donné pendant 35 jours après le débourrement. Un lot de vers à soie est élevé simultanément avec les feuilles du même arbre. Après la récolte, les feuilles sont immédiatement séchées à 50°C dans un four à air chaud et sont réduites en poudre fine.

Chaque échantillon de 60 mg de feuilles en poudre est extrait avec de l'acétone à 80 % pendant 20h. Le solvant est remplacé trois fois pendant l'extraction. Les extraits d'acétone combinés sont concentrés par évaporation sous vide. Le résidu est filtré à chaud et dilué dans 100 ml d'eau. Les tannins sont dosés dans ces extraits bruts par la méthode à la vanilline (Deshpande et Cheryan, 1985).

RESULTATS

Influence des tannins condensés : Les feuilles de *Quercus incana* récoltées après le débourrement à différents stades de croissance montrent une augmentation notable en tannins condensés (Tableau I). Au début, quand les feuilles sont âgées de 5-7 jours, la quantité de tannins condensés est de 0,2 % (équivalent à 2,44 mg de catéchine par g de poids sec de feuille), et on n'observe pas de mortalité chez les vers néo-nates nourris avec ces feuilles. Cependant après 25-27 jours de croissance de la feuille, les tannins condensés s'élèvent à 1,37 % et beaucoup de vers meurent pendant cette période. La mortalité des vers est proportionnelle à l'augmentation des tannins condensés. La concentration de tannins condensés supérieure par équivalence à 2,44 mg de catéchine/g de poids sec de feuille est toxique pour le ver à soie du chêne *A. proylei*. Effet de l'élevage précoce: Le débourrement des feuilles chez les arbres *Q. incana* qui ont subi une défoliation manuelle pendant l'hiver survient 15 jours plus tôt que dans les conditions naturelles dans la région de Shahpur. La levée de deux lots de vers à soie a été effectuée sur des feuilles nouvelles dans une période de 15 à 6 jours de 1981 à 1984.

Le Tableau II montre que les levées précoces donnent le meilleur taux effectif d'élevage et le rendement en cocons maximal. Les seconds lots donnent presque toujours un faible rendement en cocons. L'inhibition de la croissance due aux tannins condensés est peut-être l'un des facteurs de mortalité des larves de *A. proylei* comme le montre le Tableau I.

DISCUSSION

La nature polyphénolique des tannins condensés (Haslam, 1966) et la capacité reconnue de nombreux phénols à former des complexes protéiques et à inhiber l'action des enzymes (Pridham, 1963) font présumer que l'inhibition de la croissance de *A. proylei* par les tannins condensés implique aussi la capacité de digestion de protéines de la feuille par les larves. On a montré que l'ingestion de tannins a une action sur la croissance et le développement de beaucoup d'insectes phytophages (Bernays, 1981). Leur activité allélochimique provient de la formation de complexes tannins-protéines insolubles pendant la mastication des feuilles, empêchant l'action des enzymes protéolytiques dans le tube digestif (Feeny, 1969).

On a aussi émis l'hypothèse que chez certains insectes les effets allélochimiques des tannins soient modérés par le pH élevé du tube digestif et des surfactants (Martin *et al.*, 1985). Cependant, aucune preuve fondamentale n'a été donnée sur l'hypothèse selon laquelle le pH élevé de l'appareil digestif soit le résultat d'une adaptation pour contrer les effets néfastes des tannins chez les insectes se nourrissant de chêne. Nos résultats concordent avec les observations de Feeny sur *Quercus robur* L. selon lesquelles le contenu en tannins passe de 0,5 % du poids sec en avril à presque 5,0 % en septembre (Feeny et Bostek, 1968). Il a été suggéré que l'augmentation des quantités de tannins dans les feuilles de chêne au fur et à mesure que la saison avance, soit un facteur influençant le choix d'avancer la période d'alimentation sur les feuilles de chêne (Feeny, 1968). Donc l'élevage précoce de *A. proylei* sur *Q. incana* tel que nous le préconisons ici permet d'obtenir un rendement en cocons maximum. Ceci rendrait possible l'élevage commercial du ver à soie tussah dans le nord-ouest de l'Inde.

RECORD OF A NEW HYPERPARASITE, *EXORISTOBIA PHILIPPINENSIS* ASHMEAD (HYMENOPTERA : ENCYRTIDAE) OF *TRICHOLYGA BOMBYCIS* BECK (DIPTERA : TACHINIDAE), A LARVAL PARASITE OF *BOMBYX MORI* L.

G. VEERANNA, M.R. NIRMALA AND D. MAHADEVAPPA, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattaputa, BANGALORE 560 062, INDIA.

*Insect parasitism is a highly evolved behaviour. It is mainly restricted to three orders, the Hymenoptera, Diptera and Coleoptera. Hyperparasitism involves the development of a secondary parasitoid, or a hyperparasitoid, at the expense of primary parasitoid. Hence, an insect parasitoid attacks another insect which is itself parasitic on a host insect (Daniel J., Sullivan, 1987). In this report, we record a new hyperparasite, *Exoristobia philippinensis*, for the first time, of *Tricholyga bombycis* which is a serious pest of silkworm, *Bombyx mori*, causing damage to an extent of 15-20 % to Sericulture Industry (Mukherjee, 1919, Gosh, 1949, Jolly, 1981, Kasturi Bai et al, 1986). *Nesolynx thymus* and *Trichopria* sp. have been reported as hyperparasites of uzifly, *T. bombycis* (Pradip Kumar et al., 1986, Veeranna et al., 1987).*

The uzifly pupae were collected from silkworm rearings of Karnataka State Sericulture Development Institute, Bangalore (Karnataka) during January, 1987 and were kept in 250 ml glass beakers, covered with muslin cloth for emergence. The flies of *E. Philippinensis* emerged from those pupae instead of uziflies. The flies thus emerged were collected in a 250 ml glass beaker, covered with muslin cloth and were fed on honey soaked on sterilised cotton pads put on top of the covered beaker. Subsequently, these flies were cultured at room temperature in the laboratory for further studies. The temperature and humidity recorded in the laboratory ranged from 20° to 30°C and 33 to 77 percent respectively.

Preliminary observations made in the laboratory on *E. Philippinensis* revealed that they are poor fliers and are actually hoppers. Female flies are slightly bigger than males (Fig. 1). The females mate with the males more than once. However, single pairing is sufficient to fertilise the eggs. It was observed that the female fly alight on the uzifly pupa, slightly bends her abdomen and then inserts her ovipositor through the pupal case at the intersegmental region and deposits the eggs. The female fly lays about 220 eggs in her life time, and can infest a uzifly pupa more than once. On infestation, the larva of *E. philippinensis* feed voraciously within the host and develop to attain full growth. the duration of egg stage ranged from 3 to 5 days and larval and pupal stage ranged from 3 to 6 days and 6 to 7 days respectively. The total life span of the adult ranged from 15 to 20 days. The flies of *E. philippinensis* emerge from uzifly pupae by making 1 to 6 circular holes (Fig. 2). The flies of hyperparasite were provided with maggots and pupae of uzifly and larvae of different instars and pupae of *B. mori* for infestation. The flies of *E. philippinensis* emerged only from uzifly pupae. Investigations on various aspects of *E. philippinensis* are in progress, to exploit it as a tool of biocontrol agent, to minimise the uzifly population



Fig. 1. Adult fly of *Exoristobia philippinensis*.

Mouche adulte de Exoristobiaa philippinensis.



Fig 2. . Damaged uzi fly pupa with holes

Pupe de mouche uzi endommagée, avec des trous.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to Dr. K.M. Harris, Chief Taxonomist, Commonwealth Institute of Entomology, London, for identification of the hyperparasite, *Exoristobia philippinensis* Ashmead.

REFERENCES

- MUKHERJEE N.G.. (1919), Hand Book of Sericulture. Bengal Secretariat Book Department, Calcutta, 296.
- GHOSH E.C. (1949), Silk production and weaving in India. CSIR, Monograph, 61.
- JOLLY M.S. (1981), Uzifly - its identification, prevention and control. Bulletin CSR & TI, Mysore, 1.
- KASTURI BAI, A.R. MAHADEVAPPA D., NIRMALA M.R. and JYOTHI H.K., 1986. Control of uzifly by semiochemicals. Current Science, Vol. 55(20), 1038-1040.
- PRADIP KUMAR, VENKATA REDDY, V. SAMSON M.V. and JOLLY M.S., 1986, Record of a new hyperparasite of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera : Tachinidae) a larval parasite of *Bombyx mori* L., Current Science, 55 (20), 1040 - 1041.
- DANIEL J SULLIVAN, (1987), Insect hyperparasitism, Ann. Rev. Entomol., Vol. 32, 49-70.
- VEERANNA G., NIRMALA M.R. and MAHADEVAPPA D., (1987), Record of a new hyperparasite, *Trichopria* sp. (Hymenoptera : Diapriidae) of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera : Tachinidae), a larval parasite of *Bombyx mori* L., Current Science, 56(19), 1031-1032.

ETUDE D'UN NOUVEL HYPERPARASITE, *EXORISTOBIA PHILIPPINENSIS* ASHMEAD (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) DU *TRICHOLYGA BOMBYCIS* BECK (DIPTERA : TACHINIDAE), UN PARASITE LARVAIRE DE *BOMBYX MORI* L.

G. VEERANNA, M.R. NIRMALA et D. MAHADEVAPPA, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattaputa, BANGALORE 560 062, INDE.

Le parasitisme chez l'insecte est un comportement hautement évolué. Il se rencontre principalement dans trois familles, Hyménoptères, Diptères et Coléoptères. L'hyper-parasitisme suppose le développement d'un parasite secondaire ou d'un hyperparasite, aux dépens du parasite primaire. En conséquence, un insecte parasite attaque un autre insecte qui parasite lui-même un insecte hôte (Daniel J. Sullivan, 1987). Dans ce travail, nous étudions pour la première fois un nouvel hyperparasite du *Tricholyga bombycis*, *Exoristobia philippinensis*, qui est un parasite sérieux du ver à soie *Bombyx mori*, endommageant jusqu'à 15-20% les récoltes séricicoles industrielles (Mukerjee, 1919, Gosh, 1949, Jolly, 1981, Kasturo Bai *et coll.*, 1986). *Nesolynx thymus* et *Trichopria* sp. ont été classés comme hyperparasites de la mouche uzi, *T. bombycis* (Pradip Kumar *et coll.*, 1986, Veeranna *et coll.*, 1987).

Les pupes de la mouche uzi ont été récoltées sur des élevages de vers à soie du Karnataka State Sericulture Development Institute, Bangalore, (Karnataka) pendant le mois de janvier 1987, et ont été conservées dans des bechers de verre de 250 ml, recouverts de mousseline pour l'éclosion. Des mouches *E. philippinensis* ont émergé de ces chrysalides au lieu des mouches uzi. Ces mouches ont été récupérées dans un becher de verre de 250 ml couvert de mousseline et ont été nourries de miel détrempé sur un tampon de coton placé par dessus le becher couvert. Ensuite, ces mouches ont été mises en élevage à température ambiante dans le laboratoire pour effectuer de plus amples recherches. La température et l'humidité enregistrées dans le laboratoire allaient de 20 à 30°C et 33 et 77% respectivement.

Les premières observations effectuées au laboratoire sur *E. philippinensis* ont montré qu'ils volent mal et sont en réalité des sauteurs. Les mouches femelles sont légèrement plus grosses que les mâles (Fig. 1). Les femelles s'accouplent au mâle plusieurs fois. Pourtant, il suffit d'un accouplement pour fertiliser les oeufs. La mouche femelle vole et se pose sur la pupa de la mouche uzi, penche légèrement son abdomen et insère ensuite son ovipositor dans l'intersegment de la pupa et y dépose ses oeufs. La mouche femelle pond environ 200 oeufs au cours de sa vie et elle peut infester une pupa de mouche uzi plusieurs fois. Pendant l'infestation, les larves de *E. philippinensis* se nourrissent avec voracité de leur hôte et se développent jusqu'à la taille adulte. La durée du stade de l'oeuf va de 3 à 4 jours et les stades larvaire et pupal vont de 5 à 6 jours respectivement. L'espérance de vie totale de l'adulte va de 15 à 20 jours. Les mouches *E. philippinensis* émergent de la pupa uzi en faisant de 1 à 6 trous circulaires (Fig. 2). Pour permettre l'infestation, on a fourni aux mouches de l'hyperparasite des mouches et pupes de la mouche uzi, des larves aux différents âges et des chrysalides de *Bombyx mori*. Les mouches de *E. philippinensis* n'ont émergé qu'à partir des pupes de la mouche uzi.

Des recherches sur les différentes caractéristiques de *E. philippinensis* sont en cours, pour l'utiliser comme agent de contrôle biologique afin de diminuer la population de la mouche uzi.

AN EASY AND DEPENDABLE METHOD FOR STRAIN SELECTION IN MULBERRY

A. SARKAR*, K.K. CHATTERJEE and B.C. DAS** Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

Present addresses: * Intensive Sericulture Development Project in West Bengal, Central Silk Board, Krishnagar 741 101, India. ** Food and Agricultural Organization of the United Nations, Hanoi, Vietnam.

Mulberry is a perennial plant and its leaf constitutes the only food for the silkworm, *Bombyx mori* L. The yield trial experiment is conducted for several years before recommending promising strains for inclusion in a multilocal trial. This is because of the fact that the crop performance depends on the genotype, the environment in which the crops are grown, and the interaction between the genotype and the environment. The G x E interaction plays a major role in ascertaining whether the performance of genotypes is due to genetic factors or due to non-genetic (i.e. controllable and non-controllable environmental) factors. Much of the analysis of G x E effect in this direction is concerned with the estimation of stabilities of the genotypes^{1,2}. A stable genotype/trait is one which shows relatively no or less response to the environmental change; as such these are not influenced by the environmental differences. For some reasons these stable traits reveal the high heritability estimates if tested over a series of differing environments. However, the plant breeder's major interest is not statistical G x E interaction but changes in the rank of experimental lines in different environments. High and low yielding environments which rank cultivars identically are more similar in selection sense than two environments of similar yield which rank cultivars differently. This paper reports the method of identification of high yielding strains which are equally responsive to high and low yielding environments.

The data were taken from a yield trial with 100 strains of mulberry conducted in the farm of Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, from 1978 to 1981 in randomised block design with four replications under 90cm x 90cm spacing. For each environment, the lines were ranked on the basis of their mean yield in that environment. Rank sum was made by adding all the rank values of a line in different years. Rank sum value indicates the average performance of a genotype and its minimum value is indicative of high yield. Relative performance (ranking) of a line in different environments was judged by rank change measure³. The rank value of a line in one environment was subtracted from the rank of the same line in other environments to give the rank change. This was repeated for all possible comparisons and differences summed, ignoring signs, giving a measure of the overall rank change of a line in four years (environments). Value closer to zero indicates high response to all environments.

Algebraically, the performance of a line with regard to the rank sum and change may be calculated as:

Rank sum = $X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n$ and

Rank change = $[(X_1 - X_2) + (X_1 - X_3) + \dots + (X_1 - X_n)] + [(X_2 - X_3) + (X_2 - X_n)] + \dots + [(X_{n-2} - X_{n-1}) + (X_{n-2} - X_n)] + [(X_{n-1} - X_n)]$

Where $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$ are the rank positions of the line in $E_1, E_2, E_3, \dots, E_n$ environments.

Twenty strains with consecutively minimum rank sum values were primarily selected from the entire population as high yielding strains (Table I). As selection for yield is effected through the retaining top ranking portion of lines, the requisite number of strains may then be selected by compromising the rank sum and overall rank change. The selected strains should have the characteristics of showing both the rank sum and rank change values below their respective averages.

From the Table the number of high yielding strains seems to be 11, when only the rank sum is considered. However, if these selections are rigidly made further on the basis of their minimum rank change values, only seven strains could safely be selected; viz., strain Acc. nos. 18, 37, 52, 72, 74, 76, and 79, which have also their mean yield above the overall mean yield of 20 initially selected strains.

Although these measures i.e. rank sum and rank change take no account of the facts that consecutively ranked lines may differ by either a large or small amount, we find these measures as satisfactory estimates for selection of strains.

This method may easily be adopted to other agricultural crops grown in different environments especially in perennial plants where yield in successive years is considered for selection.

Strain accession number/	Rank sum/	Overall rank change/	Average leaf yield/year (kg/plant)/
<i>Souche</i>	<i>Somme des rangs</i>	<i>Variation globale de rang</i>	<i>Rendement moyen en feuille/an (kg/plant)</i>
17	79.0	27.0	1.467
18	25.5	11.5	1.849
37	4.0	0	2.458
48	97.0	63.0	1.362
49	63.0	19.0	1.544
52	28.5	12.5	1.766
56	50.0	12.0	1.620
63	65.0	25.0	1.530
64	57.5	36.5	1.615
66	89.5	33.5	1.417
70	46.0	34.0	1.686
71	51.5	38.5	1.576
72	36.0	16.0	1.742
73	32.0	50.0	1.807
74	24.5	24.5	1.827
76	10.0	4.0	2.014
77	33.0	37.0	1.838
79	21.5	16.5	1.867
88	38.0	56.0	1.777
100	98.0	90.0	1.422
Averag	47.48 <i>Moyenne</i>	30.33	1.710

Table I. Rank sum, overall rank change and average leaf yield in 20 selected strains of mulberry from a population of 100 lines

Tableau I. Somme des rangs, variations globales de rang et rendement en feuilles chez 20 souches de mûrier sélectionnées à partir d'une population de 100 lignées.

REFERENCES

- FINLAY K.W., WILKINSON G.N. (1963), Aust. J. Agric. Res., 14, 742-754.
EBERHART S.A., RUSSEL W.A. (1966), Crop Sci., 6, 36-40.
FOX P.N., RATHJAN A.J. (1981), Aust. J. Agric. Res., 32, 691-702.

UNE METHODE SIMPLE ET SURE POUR LA SELECTION DE SOUCHES DE MURIER

A. SARKAR*, K.K. CHATTERJEE et B.C. DAS**, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, Inde.

Adresses actuelles : * Intensive Sericulture Development Project in West Bengal, Central Silk Board, Krishnagar 741 101, Inde. ** Food and Agricultural Organization of the United Nations, Hanoi, Vietnam.

Le mûrier est une plante vivace dont la feuille constitue la nourriture unique du ver à soie *Bombyx mori* L. L'expérimentation sur le terrain est réalisée sur plusieurs années avant de sélectionner des souches prometteuses pour les inclure dans un essai à localisation multiple. Ceci du fait que les performances d'une culture dépendent du génotype, de l'environnement dans lequel s'effectue la culture, et de l'interaction entre l'environnement et le génotype. L'interaction G x E joue un rôle majeur pour savoir si la performance des génotypes est due à des facteurs génétiques ou non-génétiques (c'est-à-dire environnementaux contrôlables et non-contrôlables). L'analyse de l'effet G x E concerne principalement l'évaluation de la stabilité des génotypes (Finlay et Wilkinson, 1963 ; Eberhart et Russel, 1966). Un génotype/caractère stable montre peu ou pas de réponse à un changement environnemental ; et n'est donc pas influencé par les variations d'environnement. Pour plusieurs raisons ces caractères stables montrent une grande héritabilité si on les soumet à différents environnements. Cependant l'intérêt majeur du sélectionneur ne réside pas dans les statistiques de l'interaction G x E mais dans les variations obtenues dans les rangs des lignées expérimentales sous différents environnements. Les environnements à haute et faible productivité qui produisent des cultivars identiques sont plus similaires au sens de la sélection que deux environnements de productivité similaire qui produisent des cultivars différents. Cet article décrit une méthode d'identification des souches à haute productivité qui montrent une réponse égale dans les environnements à haute et à basse productivité.

Les données proviennent d'un essai sur le terrain de 100 souches de mûrier, effectué au Central Sericultural Research & Training Institute de Berhampore, de 1978 à 1981 avec quatre réplifications au hasard, en plantation espacée de 90 cm x 90 cm. Pour chaque environnement, les lignées sont classées sur la base de leur productivité moyenne dans cet environnement. La somme des rangs est calculée en additionnant toutes les valeurs des rangs d'une lignée au cours des différentes années. La somme des rangs indique la performance moyenne d'un génotype et sa valeur minimum indique un haut rendement. La performance relative (rang) d'une lignée dans différents environnements est estimée par la mesure de variation du rang (Fox et Rathjan, 1981). La valeur de rang d'une lignée dans un environnement est soustraite du rang de la même lignée dans d'autres environnements pour obtenir la variation de rang. Ceci est répété pour toutes les comparaisons possibles et différences additionnées, en ignorant les signes. Pour donner la mesure de la variation globale de rang d'une lignée en quatre ans (environnements). Une valeur proche de zéro indique une réponse élevée à tous les environnements. Algébriquement, la performance d'une lignée en ce qui concerne la somme des rangs et les variations peut être calculée ainsi :

Somme des rangs = $X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n$ et

Variation de rang = $[(X_1 \text{ } \& X_2) + (X_1 \text{ } \& X_3) + \dots + (X_1 \text{ } \& X_n)] + [(X_2 \text{ } \& X_3) + (X_2 \text{ } \& X_n)] + \dots + [(X_{n-2} \text{ } \& X_{n-1}) + (X_{n-2} \text{ } \& X_n)] + [(X_{n-1} \text{ } \& X_n)]$

Où $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ sont les positions de rang de la lignée dans les environnements E1, E2, E3 ... En. Au départ, vingt souches avec des valeurs de sommes de rang les plus faibles, ont été

sélectionnées sur la totalité de la population, comme souches à haut rendement (Tableau I). Comme la sélection sur la productivité est effectuée en retenant la meilleure partie des lignées, le nombre de souches requis peut être ensuite sélectionné en prenant en compte la somme des rangs et la variation globale de rang. Les souches sélectionnées devront avoir pour caractéristique de montrer à la fois une somme de rang et une variation de rang inférieures à leur moyenne respective. Le Tableau I concerne 11 souches à haut rendement lorsqu'on considère uniquement la somme des rangs. Cependant, si ces sélections sont poussées plus avant de manière rigide sur la base de leurs valeurs minimum pour la variation de rang, seules 7 souches peuvent être sûrement sélectionnées : les souches Acc. n 18, 37, 52, 72, 74, 76 et 79, lesquelles ont aussi un rendement moyen supérieur au rendement moyen global des vingt souches sélectionnées initialement. Bien que ces mesures (somme des rangs et variation de rang) ne prennent pas en compte le fait que des lignées de rangs consécutifs peuvent différer de manière plus ou moins importante, nous les considérons comme des estimations satisfaisantes pour la sélection des souches.

Cette méthode peut être adoptée facilement pour d'autres cultures végétales poussant dans différents environnements en particulier chez les plantes vivaces pour lesquelles le rendement sur plusieurs années est pris en considération.

CORRELATION AND PATH ANALYSIS IN MULBERRY UNDER STRESS AND NON-STRESS CONDITIONS

N. SUSHEELAMMA, M.S. JOLLY, KSHAMA GIRIDHAR, N.K. DWIVEDI and N. SURYANARAYANA. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570008 INDIA.

Correlation and path analysis were worked out in 64 genotypes of mulberry obtained from open pollinated hybrid populations from diverse sources under stress and non-stress** conditions to determine the true components of complex character like leaf yield. It revealed that average number of primary branches per plant showed high significant correlation and positive direct effect with leaf yield in both conditions, while the number of secondary branches per plant indicated high significant correlation and positive direct effect with leaf yield in stress condition only. The number of leaves per meter length of the shoot and leaf moisture percentage showed positive correlation and positive direct effect with leaf yield under stress condition. Under non-stress condition, the number and weight of leaves per meter length, number of secondary branches per plant and the length of the shoot showed positive correlation and direct association. Weight of 100 leaves showed positive correlation and negative direct effect and negative correlation and negative direct effect with leaf yield under non-stress and stress conditions respectively. Weight of leaves per meter length of the shoot showed positive correlation and negative direct effect with leaf yield whereas, the average length of the shoot revealed negative correlation and positive direct effect with leaf yield under stress conditions. The importance of yield components for the selection of high yielding genotypes in mulberry under stress and non-stress conditions has been discussed.*

**Stress means natural rainfed condition ** Non-stress means irrigation condition where irrigation is provided once in 15 days.*

INTRODUCTION

Breeding high yielding varieties of crops requires information on the nature and magnitude of variation in the available materials, association of characters with yield and among themselves and the extent of environmental influence on these characters (Singh, 1980). Path coefficient analysis measures the direct influence of one variable upon another and permits the separation of the correlation coefficient into components of direct and indirect effects (Dewey and Lu, 1959). Leaf yield is a complex entity and is observed to be associated with number of component traits. Hamada (1956) reported that leaf yield in mulberry depends upon the total length of the shoots and leaf weight in unit length of shoots under non-stress conditions. Average plant height and average number of branches per plant were considered superior characters in the selection of mulberry genotypes under irrigated conditions by Das and Krishnaswami (1969).

In order to arrest the declining trend of yield in mulberry, high yielding genotypes with stable productivity are required. As more variables are induced in correlation studies indirect association becomes complex. Path coefficient analysis permits the separation of direct effects from the indirect effects through other related characters by partitioning the correlation coefficients. It furnishes a knowledge of the paths through which the component characters influence the expression of economic character like leaf yield. Since information on these aspects in mulberry is not available under stress conditions, following investigations were carried out to determine the correlation of the different yield components with leaf yield in mulberry and to study the direct and indirect effects of these yield components on leaf yield through path coefficient analysis under stress and non-stress conditions.

MATERIAL AND METHODS

Sixtyfour genotypes emanating from open pollinated populations of mulberry were evaluated in a partially balanced 8 x 8 lattice design with two replications under two treatments, viz., low fertilizer level without irrigation (rainfed or stress) and high fertilizer level with irrigation once in 15 days (non-stress) at CSR&TI, Mysore 1983-86. There were 64 micro-plots in each replication and 12 plants were considered in each micro-plot. To eliminate the border effect, each replication had the border plants. 90 x90 cm spacing between plants was maintained under stress and non-stress conditions. Same genotypes were planted under both the treatments. Data were recorded on length of the shoot by measuring it from pruned level to the top. Shoot length of all the shoots present in 12 plants was recorded and mean shoot length is determined. The data of average number of primary and secondary branches plant, average number and weight of leaves per meter length of the shoot, weight of 100 leaves (exactly harvesting 100 leaves from each plant), moisture percentage and leaf yield under stress and non-stress were recorded from 12 plants in each replication excluding border plants. Path coefficients were obtained by inverting the correlation matrix. Direct and indirect effects were calculated according to the formula suggested by Dewey and Lu (1959).

RESULT AND DISCUSSION

Path coefficient analysis of yield and yield components (Table I) revealed that number of secondary branches per plant had strongest significant positive direct effect on leaf yield followed by number of primary branches per plant under stress conditions, whereas in non-stress condition the number of primary branches per plant had the strongest significant positive direct effect on leaf yield followed by the rest of the characters like number of leaves per meter length of the shoot, number of secondary branches per plant and weight of leaves per meter length of the shoot. The length of the shoots also showed positive correlation and direct association with leaf yield under non-stress condition. Number of branches were positively correlated with leaf yield in mulberry under stress and non-stress treatments. Yadav and Srivastava (1976) and Nandan and Pandya (1980) have made similar studies that number of tillers/branches were positively correlated with yield under non-stress conditions in *Panicum miliare* and lentil respectively.

The number of leaves per meter length of the shoot and moisture percentage of leaf had positive correlation with leaf yield while average length of the shoot and weight of 100 leaves showed negative correlation with leaf yield under stress condition (Table I).

The weight of leaves per meter length of the shoot showed positive correlation with yield, but the direct effect was negative under stress condition (Table I). Hence, the indirect effect seems to be the cause of correlation. This component had indirect effect on leaf yield via length of the shoot and moisture percentage. The length of the shoot showed negative correlation with yield but a direct effect. Therefore, this character has indirect effect on yield via number of leaves per meter length of the shoot under stress condition.

The weight of 100 leaves had negative correlation and negative direct effect with leaf yield under stress conditions (Table I) while under non-stress condition, the component showed positive correlation and negative direct effect (Table II). Hence, this character should not be considered as a selection criterion under stress condition.

The moisture percentage showed low positive correlation and low positive direct effect with leaf yield under stress condition (Table I). In contrast, the component had negative correlation and negative direct effect on leaf yield under non-stress condition (table II). Hence this component need not be taken as the selection criterion under non-stress condition.

Considering the overall direct and indirect effects of various plant characters on leaf yield in mulberry, the four characters, namely, number of primary and secondary branches per plant, number of leaves per meter length and moisture percentage (moisture content) of the leaves under stress condition and the five characters like number of primary and secondary branches per plant, number and weight of leaves per meter length and length of the shoots under non-stress condition appear to be the most valuable characters of mulberry for the selection.

S/No	Characters	Average length of shoot	No. primary branches per plant	No. secondary branches per plant	No. leaves / meter length of shoot	Wt. of leaves / meter length of shoot	Wt. of 100 leaves	Moisture percentage	Correlation with yield
N ^o	Caractères	Longueur moyenne de tige	Nbr. branches primaires / plante	Nbr. branches secondaires / plante	Nbr. feuilles / mètre de tige	Poids feuilles / mètre de tige	Poids de 100 feuilles	Pourcentage humidité	Correlation avec le rendement
1.	Average length of the shoot/ Longueur de la tige	+0.0839	-0.1526	-0.0304	+0.0779	-0.0116	-0.0405	-0.0013	-0.0196
2.	No of primary branches per plant/ Nbr. de branches primaire/plante	-0.0438	+0.2923	+0.2221	-0.0536	+0.0140	+0.0965	+0.0061	+0.4632**
3.	No secondary branches per plant/ Nbr. de branches secondaires/pl.	-0.0049	+0.1239	+0.5239	-0.0179	+0.0420	+0.1704	+0.0021	+0.5074**
4.	No of leaves/ meter length of the shoot Nbr. feuilles/ mètre de tige	-0.0306	+0.0734	+0.0440	+0.2134	-0.0154	+0.0852	+0.0036	=0.0038
5.	Wt. of leaves/ meter of shoot Poids feuilles/ mètre de tige	+0.0099	-0.0418	-0.2248	-0.0335	-0.0980	-2231	+0.0047	+0.0415
6.	Wt. of 100 feuilles Poids de 100 feuilles	+0.0106	-0.0877	-0.2777	+0.0566	-0.0680	-0.3215	+0.0018	-0.0567
7.	Moisture percentage % d humidité	-0.0029	+0.0474	+0.0299	-0.0205	-0.0123	-0.0154	+0.0376	+0.0329

Underlined figures denote direct effect with leaf yield/
 Les chiffres soulignés indiquent un effet direct sur le rendement de feuilles
 Residual effects/Effets résiduels : - + 0.4472 * P>0.05 **P>0.01

Table I. Path analysis showing the direct and indirect effects of seven characters on leaf yield in mulberry under stress condition

Tableau I. Analyse montrant les effets directs et indirects de sept caractères sur le rendement de feuilles du mûrier, dans des conditions de stress.

SI No	Characters	Average length of shoot	No. of primary branches per plant	No. of secondary branches per plant	No. of leaves /meter length shoot	Wt. of leaves /meter of the shoot	Wt. of 100 leaves	Moisture percent-age	Correlation with yield
SI No	Caractères	Longueur moyenne de tige	Nb. branches primaires /plantes	Nb. branches secondaires /plantes	Nb. feuilles /mètre de tige	Poids feuilles /mètre de tige	Poids de 100 feuilles	Pourcentage humidité	Corrélation avec le rendement
1.	Average length of the shoot <i>Longueur moyenne de la tige</i>	+0.0736	-0.1313	-0.1516	+0.0156	-0.1132	-0.1002	-0.1205	+0.0187
2.	No. of primary branches /plant <i>Nb. branches primaires / plante</i>	-0.0536	+ 0.5273	+0.1513	-0.0132	-0.0053	-0.2032	60.1053	=0.3876*
3.	No. of secondary branches / plant <i>Nb. branches secondaires / plante</i>	+0.0032	+0.1352	+0.1375	-0.1316	-0.0153	-0.0053	-0.1356	+0.1536
4.	No. of leaves/ meter length <i>Nb. feuilles par mètre</i>	+0.1053	+0.1356	+0.0053	+0.3514	-0.0535	=0.0013	+0.0135	+0.1092
5.	Wt. of leaves per meter length <i>Poids feuilles / mètre</i>	+0.0053	-0.0132	-0.01315	-0.1353	+0.1514	-0.1523	+0.0516	+0.2177
6.	Wt. of 100 leaves <i>Pds. de 100 feuilles</i>	+0.0016	-0.0816	-0.2787	+0.1567	60.1056	-0.1053	+0.1532	+0.0776
7.	Moisture percentage <i>Pourcentage d'humidité</i>	0.0018	+0.0154	+0.1132	-0.0201	-0.0113	-0.0154	-0.3316	-0.0314

Underlined figures denote direct effect with leaf yield/ *Les chiffres soulignés indiquent un effet direct sur le rendement en feuilles*

Residual effects / *Effets résiduels*: - + 0.3102 *P>0.05; ** P>0.01

Table II. Path analysis showing the direct and indirect effects of seven characters on leaf yield in mulberry under non-stress condition.

Tableau II. Analyse montrant les effets directs et indirects de sept caractères sur le rendement en feuilles de mûrier, dans des conditions de non-stress.

SUMMARY

It can therefore be concluded that the number of secondary and primary branches per plant, number of leaves per meter length of the shoot and moisture percentage are the important traits contributing to yield under stress condition. Also the number of secondary and primary branches per plant, number of leaves per meter length of the shoot, weight of leaves per meter length and length of the shoot are found to be important traits contributing to yield under non-stress conditions. Therefore, it is necessary that due emphasis should be given to these traits while selecting for higher leaf yield in mulberry under stress and non-stress conditions.

REFERENCES

- DAS B.C. and KRISHNASWAMY (1969), Estimation of components of variation of leaf yield and its traits in mulberry, J. Sericult. Sci. Japan, 38, 242-248.
- DEWEY D.R. and K.H. LU, (1969), Correlation and path coefficient analysis of components of crested wheat grass seed production. Agron. J. 51, 515-518.
- HAMADA S. (1956), Principles in high yield mulberry culture, J. Silkworm T-11,8, 125-132.
- NANDAN R. and B. P. PANDYA (1980), Correlation path coefficient and selection indices in lentil, Indian J. Genet., 40(2), 399-404.
- SINGH K.N., (1980) Path analysis in linseed under sodic soil conditions. Indian, J. Genet., 40(2), 385-387.
- YADAV A. and P. SRIVASTAVA (1976). Path analysis in *Panicum miliare*. Indian J. Genet., 36, 64-68.

CORRELATION ET ANALYSE DE VARIANCE CHEZ LE MURIER DANS DES CONDITIONS DE STRESS ET DE NON STRESS

B.N. SUSHEELAMMA, M.S. JOLLY KSHAMA GIRIDHAR, N.K. DWIVEDI et N. SURYANARAYANA. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008 INDE.

L'étude de la corrélation et l'analyse de variance ont été effectuées sur 64 génotypes de mûrier obtenus par pollinisation libre de populations hybrides de sources diverses, dans des conditions de stress et de non-stress, afin de déterminer les composants véritables des caractères complexes tels que le rendement en feuilles. La moyenne du nombre de branches primaires par plante est fortement corrélée et présente un effet direct positif avec le rendement en feuilles, dans les deux conditions, alors que le nombre de branches secondaires par plante donne une corrélation hautement significative et un effet direct positif avec le rendement en feuilles, en condition de stress seulement. Le nombre de feuilles par mètre de tige et le pourcentage d'humidité de la feuille donnent une corrélation significative et un effet direct positif avec le rendement en feuilles dans des conditions de stress. Dans les conditions de non-stress, le nombre et le poids des feuilles par mètre de tige, le nombre de branches secondaires par plante et la longueur de la tige sont fortement corrélés et en association directe. Le poids de 100 feuilles donne une corrélation positive et un effet direct négatif, une corrélation négative et un effet direct négatif avec le rendement en feuilles dans les conditions de non-stress et de stress respectivement. Le poids de feuilles par longueur de tige indique une corrélation positive et un effet direct négatif sur le rendement en feuilles, alors que la longueur moyenne de la tige indique une corrélation négative et un effet positif direct sur le rendement en feuilles dans les conditions de stress. Nous avons discuté de l'importance des composants du rendement pour la sélection de génotypes de mûrier, dans les conditions de stress et de non-stress.

INTRODUCTION

La multiplication de variétés à haut rendement suppose de connaître la nature et l'amplitude des variations chez le matériel disponible, l'association des caractères avec le rendement et entre eux, et l'importance de l'influence de l'environnement sur ces caractères (Singh, 1980). Les analyses du coefficient permettent de mesurer l'influence directe d'une variable sur une autre et la séparation du coefficient de corrélation en composés à effet direct et indirect (Dewey et Lu, 1959). Le rendement en feuilles est une entité complexe et d'après les observations, il semble être associé à un grand nombre de caractéristiques des composés. Hamada (1956) a écrit que le rendement en feuilles du mûrier dépend de la longueur totale des tiges et du poids de feuille par unité de longueur des tiges en condition de non-stress. Das et Krishnaswami (1956) considèrent que la hauteur moyenne de la plante et le nombre moyen de branches par plante sont des caractères supérieurs en vue de la sélection de génotypes du mûrier obtenus en condition d'irrigation.

Pour stopper le déclin de productivité du mûrier, il faut obtenir des génotypes à haut rendement avec une productivité stable. Comme un plus grand nombre de variables est impliqué dans les études de corrélation, l'association indirecte devient complexe. L'analyse du coefficient permet de séparer les effets directs des effets indirects à travers d'autres caractères proches en répartissant la valeur des coefficients de corrélation. Cela apporte des informations sur la manière dont les divers caractères

influent sur l'expression des caractères économiques tels que le rendement en feuilles. Puisque nous ne possédons pas d'information sur ces aspects concernant le mûrier en condition de stress, nous avons poursuivi nos recherches afin de déterminer la corrélation entre les différents composés de rendement et le rendement en feuilles, et d'étudier les effets directs et indirects de ces composés sur le rendement en feuilles, à l'aide de l'analyse du coefficient en condition de stress et de non-stress.

MATERIELS ET METHODES

Des mesures ont été effectuées sur soixante-quatre génotypes provenant de populations de mûrier pollinisées librement se trouvant dans une structure de 8 x 8, avec deux répétitions pour chaque traitement, c.à.d. en utilisant un faible niveau de fertilisant, sans irrigation (eau de pluie ou stress) et un haut niveau de fertilisant avec irrigation tous les 15 jours (non-stress) au CSR&TI, Mysore, de 1983 à 1986. Il y a 64 micro-plantations dans chaque répétition et les plantes ont été observées dans chaque micro-plantation. Afin d'éliminer l'effet de bordure, chaque répétition possède des plantes en bordure. Un espace de 90 x 90 cm entre chaque plante est maintenu dans des conditions de stress et de non-stress. Les mêmes génotypes sont été plantés et ont subi les deux traitements. Les nombres moyens de plantes à branches primaires et secondaires, le nombre moyen et le poids de feuilles par longueur de tige, le poids de 100 feuilles (une récolte de 100 feuilles exactement a été faite sur chaque plante), le pourcentage d'humidité et le rendement en feuilles dans les deux conditions, ont été mesurés sur 12 plantes par répétition, en excluant les plantes des bordures. Les coefficients ont été obtenus en inversant la matrice de corrélation. Les effets directs et indirects ont été calculés suivant la formule proposée par Dewey et Lu (1959).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse des coefficients de rendement et des composants du rendement (Tableau I) montre que le nombre de branches secondaires par plante a l'effet direct positif le plus significatif sur le rendement en feuilles, montrant que le nombre de tiges / branches est corrélé positivement avec le rendement en condition de stress chez *Panicum miliare* et la lentille respectivement.

Le nombre de feuilles par mètre de tige et le pourcentage d'humidité de la feuille donnent une corrélation positive avec le rendement en feuille, alors que la longueur de la tige et le poids de 100 feuilles donnent une corrélation négative avec le rendement en feuilles en condition de stress (Tableau I).

Le poids des feuilles par mètre de tige est corrélé positivement avec le rendement, mais l'effet direct est négatif en condition de stress (Tableau I). Aussi, l'effet indirect semble être la cause de la corrélation. Ce composant a un effet indirect sur le rendement en feuilles par l'intermédiaire de la longueur de la tige et le pourcentage d'humidité. La longueur de la tige est corrélé négativement avec le rendement, mais donne un effet positif direct. C'est pourquoi, ce caractère a un effet indirect sur le rendement, par l'intermédiaire du nombre de feuilles par mètre de tige en condition de stress.

Le poids de 100 feuilles donne une corrélation négative et un effet négatif par rapport au rendement en feuilles en condition de stress (Tableau I), alors qu'en condition de non-stress, le composant est corrélé positivement et donne un effet direct négatif (Tableau II). De ce fait, ce caractère ne devrait pas être considéré comme un critère de sélection en condition de stress.

Le pourcentage d'humidité indique une corrélation positive peu élevée et un effet direct positif peu élevé sur le rendement en feuilles dans les conditions de non-stress (Tableau I). Par contre, le composant donne une corrélation négative et un effet direct sur le rendement en feuilles en condition de non-stress (Tableau II). De ce fait, ce composant ne doit pas être pris comme critère de sélection en condition de non-stress.

Si l'on considère l'ensemble des effets directs et indirects des divers caractères des plantes sur le rendement en feuilles du mûrier, les quatre caractères, c.à.d. le nombre de branches primaires et secondaires par plante, le nombre de feuilles par longueur et le pourcentage d'humidité (contenu en eau) des feuilles sous condition de stress et les cinq caractères tels que le nombre de branches primaires

et secondaires par plante, le nombre et le poids des feuilles par mètre et la longueur des tiges en condition de stress semblent être les caractères les plus valables pour la sélection chez le mûrier.

CONCLUSIONS

On peut donc conclure que le nombre de branches secondaires et primaires par plante, le nombre de feuilles par mètre de tige et le pourcentage d'humidité semblent être les caractères importants contribuant au rendement dans des conditions de non-stress. Aussi, il est nécessaire de mettre l'accent sur ces caractères lorsque la sélection est faite en vue d'un rendement de feuilles supérieur chez le mûrier en condition de stress et de non-stress.

INHIBITION OF CONIDIAL GERMINATION OF *CERCOSPORA MORICOLA* BY MULBERRY LEAF LEACHATES

J. SUKUMAR, Mulberry Protection Section, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, BANGALORE 560 062, India

Inhibition of conidial germination of Cercospora moricola on mulberry leaf surfaces and in leaf leachates was studied. The top four leaves did not show any significant inhibition. A gradual increase in the degree of inhibition was observed from fifth leaf onwards. Leaves 18 and 20 showed total inhibition respectively on their surfaces and in leachates. The possible occurrence of antifungal compounds in the leaf leachates and their role in resistance to C. moricola infection are discussed.

Key words : *Cercospora moricola* , Leaf leachates, mulberry.

INTRODUCTION

Leaf leachates contain a large number of amino acids, organic acids, carbohydrates and antifungal compounds (Morgan & Tukey, 1964). They are known to enhance/inhibit conidial germination of many foliar pathogenic fungi and determine susceptibility or resistance to diseases (Deverall & Wood, 1961 ; Beute, 1973 ; Schneider & Sinclair, 1975). *Cercospora moricola* Cooke, causes severe leaf spot disease of mulberry. The pathogen infects only the young leaves but not mature ones (Sukumar & Ramalingam, 1981). The present study reports the inhibitory effects of mulberry leaf leachates on conidial germination of *C. moricola* and their possible role in disease resistance is discussed.

MATERIALS AND METHODS

Leaves of the variety M5 of *Morus indica* L. were numbered by counting the topmost unfurling leaf as 1 and the rest of the leaves below as 2, 3, 4 and so on. Conidial suspension of the pathogen was prepared either in deionized water (non-amended) or in 0.1 % Difco nutrient broth (amended), from a 10-day old culture grown on potato dextrose agar medium. Two sets of leaves were spray-inoculated with amended or non-amended conidial suspension of the pathogen. After 24 hours of incubation under high humidity, the leaves were cleared in choral hydrate and examined under a microscope for conidial germination. Another set of leaves was leached separately by shaking in 250ml deionized water in one litre flasks for 30 minutes. The leachates were reduced *in vacuo* (<45° C) to half the volume required to wet the leaves to run off. Equal volumes of either amended or non-amended conidial suspension and the leaf leachates were placed on sterile glass slides and mixed with a sterile needle. Conidial suspension mixed with equal volumes of deionized water or nutrient broth served as control. For each treatment triplicates were maintained. Data on conidial germination were gathered by scanning 100 conidia per replicate after 24 hours of incubation.

RESULTS

The results of spore germination tests are presented in tables 1 and 2. The degree of inhibition of spore germination ranged from nil to one hundred percent on both the leaf surfaces and in leaf leachates. The cleared leaves showed that the proportion of conidial germination, germ tube number

and the germ tube length were more on the first four leaves but declined on mature ones. (Table 1). Total inhibition was observed on leaf number 18 and onwards. There were no differences in conidial germination on the leaves receiving amended and non-amended conidial suspension.

Highest number of conidia germinated in leachates from the topmost four leaves with or without nutrient broth (Table 2). A gradual increase in inhibitory activity of the leachates was observed with maturity of the leaves. Total inhibition of conidial germination was noticed in both amended and non-amended leachates from leaf number 20 and onwards. Significant reduction in germ tube number and germ tube length was recorded in leachates from mature leaves as compared with those from young leaves and controls.

Leaf No.	% conidial germination		No. of germ tubes per 100 conidia		Length of the germ tube (μm)	
<i>N de la feuille</i>	% de germination		Nb de tubes germinaux		Longueur du tube	
	A	NA	A	NA	A	NA
1	96	96	139	131	51	53
2	98	96	121	117	48	48
3	96	93	126	112	43	40
4	94	95	116	117	39	41
5	89	91	100	93	33	32
6	74	83	88	87	35	30
7	77	71	83	77	27	25
8	59	63	63	65	27	22
9	55	54	55	57	20	15
10	31	27	31	27	18	18
11	27	20	27	21	11	8
12	19	18	19	18	9	4
13	14	14	14	16	7	3
14	8	6	9	8	3	2
15	5	3	5	3	3	4
16	3	3	3	3	3	3
17	2	1	2	2	3	3
18	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0

Table I. Inhibition of conidial germination of *C. moricola* on leaf surfaces sprayed with amended (A) and non-amended (NA) conidial suspensions.

Tableau I. Inhibition de la germination conidiale de C. moricola à la surface des feuilles vaporisées avec une suspension conidiale amendée (A) ou non-amendée (NA).

DISCUSSION

Performed fungal toxicants have been implicated in resistance to *Cercospora beticola* on sugar beet (Harrison *et al.*, 1961). The present study shows that mature leaves of mulberry produce antifungal chemicals which inhibit *C. moricola* conidial germination. The inhibitory activity of the leaf leachates was not reduced even after the addition of nutrients. Hence it may be concluded that

the resistance of mature leaves to *C. moricola* is due to the presence of preformed antifungal compounds and not due to the absence of nutrients on their surfaces. *C. moricola* infects the host only through stomata. The increased inhibition of conidial germination and germ tube growth by leaf leachates may be directly related to the resistance of mature mulberry leaves to *C. moricola* and leaf spot development.

Leaf No.	% conidial germination		No. of germ tubes per 100 conidia		Length of the germ tube (μm)	
N ^o de la feuille	% de germination		Nbre de tubes de germ. 100 conidia		Longueur du tube de germ. / tube (μm)	
	A	NA	A	NA	A	NA
1	97	96	141	139	65	63
2	97	97	135	129	62	57
3	96	93	120	125	51	49
4	94	95	110	103	45	49
5	85	87	117	90	43	39
6	80	81	91	92	37	34
7	79	75	87	99	31	27
8	66	59	70	63	27	23
9	53	47	53	51	18	18
10	41	37	57	39	17	13
11	31	25	40	37	15	9
12	17	13	33	25	10	4
13	8	9	11	10	6	4
14	6	7	9	7	3	2
15	7	7	7	7	3	2
16	5	5	5	5	2	2
17	3	3	3	3	2	1
18	3	4	3	4	1	1
19	2	2	2	2	1	1
20	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0
Control (water)/ Témoin (eau)		96	139		67	
Control (nutrient broth)/ Témoin (Milieu nutritif)		97	143		69	

Table II. Inhibition of *C. moricola* conidial germination in amended (A) and non-amended (NA) leaf leachates of mulberry.

Tableau II. Inhibition de la germination conidiale de *C. moricola* dans les solutions de rinçage de feuilles de mûrier amendées (A) et non amendées. (B).

ACKNOWLEDGEMENTS

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

REFERENCES

- BEUTE M.K. (1973), Increased leaf exudation enhances curvularia leaf spot severity in virus infected gladiolus, *Phytopathology*, 63, 1204-1205.
- DEVERALL B.J., WOOD R.K.S. (1961), Infection of bean plants (*Vicia faba* L.) with *Botrytis cinerea* and *B. fabae*, *Ann. appl. Biol.*, 49, 461-472
- HARRISON M., PAYNE M.G., GASKILL J.O. (1961), Some chemical aspects of resistance to *Cercospora* leaf spot in sugar beets, *J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol.*, 11, 457-468.
- MORGAN J.V., TUKEY Jr H.G. (1964), Characterization of leachates from plant foliage, *Plant Physiol.*, 39, 590-593.
- SCHNEIDER R.W., SINCLAIR J.B. (1975), Inhibition of conidial germination and germ tube growth of *Cercospora canescens* by cowpea leaf diffusates, *Phytopathology*, 65, 63-65.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1981), Splash dispersal in *Cercospora moricola*, *Sci. & Cult.*, 47, 173-175.

INHIBITION DE LA GERMINATION CONIDIALE DE *CERCOSPORA MORICOLA* PAR DES SOLUTIONS DE RINCAGE DE LA FEUILLE DE MURIER

J. SUKUMAR Mulberry Protection Section, Karnataka State Sericulture Development
Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.

*Nous avons étudié l'inhibition de la germination conidiale de *Cercospora moricola* à la surface de la feuille de mûrier et dans des solutions de rinçage des feuilles. Les quatre feuilles supérieures ne donnent aucune inhibition particulière. On observe une augmentation régulière du degré d'inhibition à partir de la 5ème feuille. On constate une inhibition totale pour les feuilles 18 et 20 aussi bien à leur surface que dans les solutions de rinçage. La présence possible de composants antifongiques dans la solution de rinçage des feuilles ainsi que leur rôle dans la résistance à *C. moricola*, sont discutés.*

INTRODUCTION

Les solutions de rinçage des feuilles contiennent une quantité importante d'acides aminés, d'acides organiques, d'hydrates de carbone et de composants antifongiques (Morgan et Tukey, 1964). Elles sont connues pour favoriser ou inhiber la germination conidiale de nombreux champignons pathogènes des feuilles et pour déterminer la sensibilité ou la résistance aux maladies (Deverall et Wood, 1961 ; Beute, 1973 ; Schneider et Sinclair, 1975). *Cercospora moricola* Cooke provoque une grave maladie de la tache de la feuille de mûrier. Ce pathogène contamine seulement les jeunes feuilles et non celles qui sont arrivées à maturité (Sukumar et Ramalingam, 1981). Notre étude décrit les effets inhibiteurs des solutions de rinçage de la feuille de mûrier sur la germination conidiale de *C. moricola* et le rôle qu'elles peuvent jouer dans la résistance aux maladies.

MATERIEL ET METHODES

Les feuilles de la variété M5 de *Morus indica* L. sont numérotées en prenant la feuille la plus élevée en train de se déplier comme n1 et les autres feuilles en-dessous comme n 2, 3, 4 et ainsi de suite. Une suspension conidiale du pathogène est préparée soit dans de l'eau dé-ionisée (non-amendée) soit dans un milieu nutritif Difco à 0,1 % (amendée), à partir d'une culture de 10 jours sur milieu gélosé de dextrose de pomme de terre. Les suspensions conidiales du pathogène amendée et non-amendée sont vaporisées sur deux lots de feuilles. Après 24 h d'incubation avec un taux d'humidité élevé, les feuilles sont lavées à l'acide chlorhydrique et la germination conidiale est examinée au microscope. Un autre lot de feuilles est rincé séparément par agitation dans 250 ml d'eau déionisée dans des flacons d'un litre pendant 30 minutes. Les solutions de rinçage sont concentrées sous vide (-C) à la moitié du volume nécessaire pour humidifier les feuilles. Des volumes égaux de suspension conidiale amendée ou non-amendée et de solutions de rinçage des feuilles sont placés sur des lamelles en verre stériles et mélangés avec une aiguille stérile. La suspension conidiale mélangée avec un volume égal d'eau déionisée ou de milieu nutritif est prise comme échantillon témoin. Pour chaque traitement, trois replications sont faites. Les données obtenues sur la germination conidiale sont rassemblées après examen de 100 conidies par replication après 24 h d'incubation.

RESULTATS

Les résultats des tests de germination des spores sont présentés dans les tableaux I et II. Le degré d'inhibition de la germination conidiale varie de 0 à 100 % à la fois sur la surface foliaire et dans la solution de rinçage. Sur les feuilles rincées on constate que la proportion de germination conidiale, le nombre de tubes germinaux et la longueur des tubes germinaux sont plus importants chez les cinq premières feuilles et diminuent chez les feuilles matures (Tableau I). On observe une inhibition totale à partir de la feuille n 18. On n'observe pas de différences en ce qui concerne la germination conidiale entre les feuilles vaporisées avec la suspension conidiale amendée et celles vaporisées avec la suspension non-amendée. La germination conidiale la plus importante est observée dans les solutions de rinçage des cinq premières feuilles du haut avec ou sans milieu nutritif (Tableau II). On observe une augmentation progressive de l'activité inhibitrice des solutions de rinçage avec la maturité des feuilles. L'inhibition totale de la germination conidiale est observée à la fois dans les solutions de rinçage amendées et non-amendées, à partir de la feuille n 20. On enregistre une diminution significative du nombre de tubes germinaux et de la longueur des tubes germinaux dans les solutions provenant de feuilles matures par rapport à celles provenant des feuilles jeunes et aux solutions témoins.

DISCUSSION

Des substances antifongiques présentes dans la betterave à sucre jouent un rôle dans la résistance à *Cercospora beticola* (Harrison *et al.*, 1961). Notre étude montre que les feuilles matures du mûrier produisent des substances antifongiques qui inhibent la germination conidiale de *C. moricola*. L'activité inhibitrice des solutions de rinçage des feuilles n'est pas réduite par l'addition de substances nutritives. On peut donc conclure que la résistance des feuilles matures à *C. moricola* est due à la présence de substances antifongiques et non à l'absence de substances nutritives à leur surface. *C. moricola* contamine son hôte par les stomates uniquement. L'inhibition accrue de la germination conidiale et de la croissance des tubes germinaux dans les solutions de rinçage des feuilles peut être directement liée à la résistance des feuilles de mûrier matures envers *C. moricola* et le développement de la tache de la feuille.

THE STUDY OF MULBERRY WINTER BUDS IN BANGLADESH

M.A. BARI and M. ISLAM, Bangladesh Sericulture Research and Training Institute,
Rajshahi, Bangladesh.

During winter season in Bangladesh, vegetative growth of the mulberry plants becomes slower and stunted. They shed off their leaves leaving only a bunch with closed terminal buds at the tips of their branches. The defoliated portion of the branch bear only naked buds on leaf scars. The bud growing at the leaf axil becomes the main bud. Sometimes, the main bud is accompanied by an accessory bud at one side or two accessory buds at both side. The one-side and two-side accessory buds act on important role for sprouting new shootlets when the main buds are injured. In some varieties during flowering season, all the winter buds, including both one-side accessory buds, initiate sprouting together producing more flowers and giving more seeds. To ascertain the kind, characteristics and morphological structure of the buds is of great significance to the cultivation, selection and breeding of mulberry varieties (Anonymous, 1975). Winter buds start sprouting in early January and continue till mid-February (Bari, 1986). Mulberry bud scales have also been studied in West Java (Katsumata, 1972) and a few research works have been reported on budding in mulberry (Gururajan, 1962 and Iwata, 1971).

The study was carried out on mulberry trees planted in the Germplasm Bank of Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh. These mulberry trees were raised on low-cut form with row-to-row and plant-to-plant spacing of 152.5 cm and 122 cm respectively. The observation was made on thirty one mulberry varieties, of which twenty four were indigenous and seven exotic ones (5 Indian and 2 Chinese). Mulberry trees growing in the germplasm Bank were pruned once a year in the month of April after harvesting the fruits. There were three replications with randomized block design and ten plants were taken in each replication. Bud structures were studied in December when most of the leaves had shed off leaving the auxillary winter buds on scars. Moreover, in December, the buds attain their full size and starts vigorous sprouting in the following month of January. Matured winter buds were collected randomly to study their structures under simple microscope (10x).

Average bud length (cm), breadth (cm), weight (g), number of scales, accessory bud on one side, accessory bud on both sides and budding date were studied and are given in Table I.

The results showed that the structure of the buds varied greatly in different varieties. Longest winter bud was noticed in an indigenous variety BSRM 29 (0.82 cm), followed by Lup 40 (0.74 cm), a Chinese variety. The length of the bud in BSRM 29 was found to be 110% longer than that of smallest bud noticed in an indigenous race BSRM-3. Regarding bud-weight, highest value was recorded in Lup 40 which was 900% heavier than that of BSRM-3. Number of bud scales also showed a significant variation from 5.2 in BSRM-3 to 9.5 in Lup 40. With respect to one side accessory bud, highest value was observed in 'Gagra', followed by BSRM-12. On the contrary, the variety BSRM-29 had no accessory buds at all. Lup 40 showed the highest value in having accessory bud in both sides. Budding time also showed a wide range of variations. Varieties BSRM-11 and Lup 40 start sprouting in early January (4-1-87) where BSRM-7 and Telia began budding in mid-February (16-2-87).

On the basis of budding behaviour the varieties BSRM-11, Lup 40, Kanva-2, S-799, S-1 and BSRM-31 may be denoted as the early sprouting mulberry germplasms in Bangladesh, condition.

	Length (cm)	Breadth (cm)	Weight (g)	Number of scales	One-side access- ory bud	Two-side access- ory bud (%)	Budding date
	<i>Longueur (cm)</i>	<i>Largeur (cm)</i>	<i>Poids (g)</i>	<i>Nombre inter- noeuds</i>	<i>Bourgeons accessoires sur 1 côté</i>	<i>Bourgeons accessoires sur 2 côtés</i>	<i>Date du bourgeon- nement</i>
INDIGENOUS							
INDIGENES							
BSRM-1	0.60	0.49	0.02	7.20	3.93	0.84	9-1-87
BSRM-2	0.45	0.40	0.01	6.90	7.02	0.14	18-1-87
BSRM-3	0.39	0.30	0.008	5.20	2.32	-	No budding
BSRM-4	0.47	0.37	0.01	6.95	3.32	9.06	12-1-87
BSRM-5	0.47	0.36	0.01	6.95	4.98	1.17	25-1-87
BSRM-6	0.49	0.35	0.01	7.00	16.93	3.83	13-1-87
BSRM-7	0.41	0.36	0.01	7.00	12.92	2.53	12-2-87
BSRM-10	0.58	0.39	0.01	7.80	10.79	3.10	9-2-87
BSRM-11	0.48	0.40	0.01	7.00	14.16	4.32	4-1-87
BSRM-12	0.47	0.30	0.01	7.95	18.06	3.67	12-2-87
BSRM-16	0.46	0.36	0.01	7.60	3.19	0.15	27-1-87
BSRM-23	0.50	0.37	0.02	6.95	10.81-	-	12-1-87
BSRM-24	0.40	0.30	0.01	7.35	6.26	-	6-2-87
BSRM 25	0.57	0.40	0.02	7.65	5.80	-	17-1-87
BSRM-25	0.48	0.35	0.01	6.95	16.66	4.24	14-1-87
BSRM-27	0.50	0.38	0.02	8.65	15.19	4.82	12-1-87
BSRM-28	0.43	0.31	0.01	6.70	6.49	-	13-1-87
BSRM-29	0.82	0.45	0.04	7.15	-	-	31-1-87
BSRM-30	0.50	0.35	0.02	7.30	3.54	-	27-1-87
BSRM-31	0.54	0.31	0.01	6.95	1.71	-	10-1-87
Telia	0.51	0.30	0.01	7.15	7.06	1.61	16-2-87
Gagra	0.49	0.33	0.01	8.25	22.16	4.49	8-2-87
Lal bombai	0.53	0.38	0.02	7.4	1.81	-	26-1-87
Shada	0.44	0.32	0.01	6.95	8.60	1.47	20-1-87
bombai							
INDIAN							
INDIENS							
Kanva-2	0.46	0.30	0.01	7.4	1.25	0.48	6-1-87
S-1	0.50	0.40	0.02	7.9	9.17	1.05	10-1-87
S-799	0.47	0.30	0.01	8.85	16.41	8.51	8-1-87
C-776	0.52	0.40	0.02	7.2	6.68	1.0	28-1-87
S-54	0.41	0.39	0.01	7.7	4.30	1.77	28-1-87
CHINESE							
CHINOIS							
Jing	0.60	0.40	0.03	8.1	3.61	7.46	14-1-87
Lup-40	0.74	0.54	0.08	9.5	15.95	10.42	4-1-87
LSD at 5%	0.05	0.05	0.01	0.73	0.20	0.33	

Table I. Mean value of bud characters in different mulberry varieties.
 Tableau I. Valeur moyenne des caractères du bourgeon dans les diverses variétés de mûrier.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975), Text-Book of Tropical Sericulture, Japan overseas co-operation volunteers, 4-2-24, Hirro, Tokyo, Japan, 125.
- BARI M.A. (1976), Mulberry flowering in Bangladesh, ICTRETS News, 11(4).
- GURURAJAN N.K. (1962), Effect of chilling on dormant buds of *Morus nigra* L., Indian J. Seric. 1(2), 19-23.
- IWATA E. (1971), Effect of plant growth inhibitors, methylcaprate emulsions on the growth of lateral shoots in mulberry plants, J. Seric. Sci. Japan 39(3), 158-166.
- KATSUMATA F. (1972), Mulberry species in West Japan and their peculiarities, J. Seric. Sc. Japan, 41(3), 213-222.

ETUDE DES BOURGEONS HIVERNAUX DE MURIER AU BANGLADESH

M.A. BARI et M. ISLAM Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

Pendant l'hiver, au Bangladesh, la croissance des mûriers devient plus lente et les plants se rabougrissent. Ils perdent leurs feuilles et ne gardent qu'un bouquet au bout de leurs branches avec des bourgeons terminaux fermés. La partie défoliée de la branche porte seulement des bourgeons à l'emplacement des empreintes laissées par la feuille. Le bourgeon poussant à l'aisselle de la feuille devient le bourgeon terminal. Parfois, le bourgeon principal est accompagné par un bourgeon auxiliaire sur un côté ou deux bourgeons auxiliaires sur deux côtés. Ces bourgeons auxiliaires jouent un rôle important et permettent l'apparition de nouvelles pousses lorsque les bourgeons principaux sont en mauvais état. Chez certaines espèces, pendant la floraison, tous les bourgeons hivernaux, y compris les bourgeons auxiliaires se mettent à pousser ensemble, produisant plus de fleurs et donnant plus de graines. Pour maintenir l'espèce, la connaissance des caractéristiques et de la structure morphologique est très importante pour la culture, la sélection et la multiplication des variétés de mûrier (Anonyme, 1975). Les bourgeons hivernaux commencent à pousser début janvier et continuent jusqu'à la mi-février (Bari, 1986). Les inter-nœuds de mûriers ont également été étudiés à Java-Ouest (Katsumata, 1972) et quelques articles sont parus sur le bourgeonnement du mûrier (Gururajan, 1962 et Iwata, 1971).

L'étude a été conduite sur des mûriers plantés dans la Germplasm Bank of Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh. Ces mûriers ont été élevés en taille basse, les rangées espacées de 152,5 cm et les plants de 122 cm. Les observations ont été menées sur 31 variétés de mûrier, dont 24 étaient indigènes et 7 exotiques (cinq indiennes et deux chinoises). Les mûriers qui poussent dans la Germplasm Bank sont taillés une fois par an au mois d'avril, après la récolte des fruits. L'étude a été conduite en trois replications et dix plantes ont été prises au hasard pour chaque replication. La structure des bourgeons a été étudiée en décembre, lorsque la plupart des feuilles sont tombées, laissant les bourgeons hivernaux auxiliaires sur les cicatrices. De plus, en décembre, les bourgeons atteignent leur taille maximum et se mettent à bourgeonner vigoureusement le mois suivant, en janvier. Les bourgeons hivernaux arrivés à maturité sont récoltés au hasard afin d'étudier leurs structures sous microscope optique ($\times 10$).

La longueur moyenne des bourgeons (cm), la largeur (cm), le poids (g), le nombre d'inter-nœuds, les bourgeons accessoires sur un côté, sur deux côtés et la date de bourgeonnement ont été étudiés et sont donnés dans le Tableau I.

Les résultats montrent que la structure des bourgeons varie considérablement dans les différentes variétés. Les bourgeons hivernaux les plus longs apparaissent sur une variété indigène BSRM 29 (0,82 cm), suivi par Lup 40 (0,74 cm), une variété chinoise. La longueur du bourgeon chez BSRM 29 se révèle être 110 % plus longue et que celle du plus petit bourgeon observé dans la race indigène BSRM-3. En ce qui concerne le poids du bourgeon, les valeurs les plus fortes sont enregistrées chez Lup 40 où elles sont 900 % plus élevées que chez BSRM-3. Le nombre d'inter-nœuds varie également de manière significative entre 5,2 chez BSRM-3 et 95 chez Lup 40. En ce qui concerne les bourgeons auxiliaires apparaissant d'un seul côté, la valeur la plus élevée se trouve chez "Gagra", suivi par BSRM-12. Au contraire, la variété BSRM-29 n'a pas de bourgeon auxiliaire du tout. Lup 40 présente la valeur la plus élevée, en ayant des bourgeons auxiliaires des deux côtés. L'époque du bourgeonnement varie également beaucoup. Le bourgeonnement commence début janvier (4-1-87)

chez les variétés BSRM-11 et Lup 40, alors qu'il commence mi-février (16-2-87) chez BSRM-87 et Telia.

Si l'on se réfère au bourgeonnement, les variétés BSRM-11, Lup-40, Kanva-2 S-799, S-1 et BSRM-31 peuvent être considérées comme mûriers précoces dans les conditions climatiques du Bangladesh.

CULTURAL CONTROL OF THE COLLAR-ROT DISEASE OF MULBERRY (*MORUS ALBA* L.)

B.R. DAYAKAR YADAV and A.R. KASTURI BAI Moriculture Division, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalagattapura, Bangalore 560 062, India.

*The paper reports with illustrations the cultural control methods adopted to control the collar-rot disease incited by the fungus *Sclerotium rolfsii* Sacc. on *Morus alba* L. var. *kanva-2* which forms a major food for silkworms (*Bombyx mori* L.). aspects of symptomatology, aetiology and pathogenicity of the fungus are studied. the experimental results show that by adopting the new pruning methods viz., semi-low cut (at 30 cm), middle cut (at 50 cm) and high cut (at 80 cm), the mulberry plants were free from the fungal attack. This method of controlling the disease was found to be economical and effective. Improvement in mulberry yield was also recorded.*

INTRODUCTION

The mulberry (*Morus alba* L.), a large shrub, distributed both in tropics and temperate regions of the world, can attain a height of 5 meters or more under favourable environmental conditions. This is the sole food material for silkworms (*Bombyx mori* L.). The Karnataka state produces three-fourths of the total silk production of India, and the sericulture is dependent on the commercial cultivation of mulberry variety kanva-2, an open pollinated hybrid selection from a population of *Morus alba* L.

During the early and late monsoon periods (August to November), a collar-rot disease incited by a soil-borne fungal pathogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. was noticed in mulberry plantation and continued to thrive in soil throughout in irrigated plantations. The disease attracted special attention in view of the severity and its economic importance in sericulture industry. A reference to the literature indicated that the disease was a new outbreak from India (Anonymous, 1960; 1980; Mac Farlane, 1968; 1982). The early symptom of the disease is the appearance of dark brown to black watery soaked outer soft cortex tissue of the stem near the shoot-soil zone, which rapidly encircles the whole stem and eventually moving both upward and downward region of the stem; on the affected part whitish mycelial structures with pinkish initially to dark brownish sclerotial bodies appear over the dead tissue. Once the stem base is affected the entire shoot drops down (Fig. 1).

In Karnataka state, row system of mulberry plantation is more prevalent. The grown plants are pruned at base 2 to 5 times a year in irrigated plantation and in others annual base pruning is done, which coincides with the factors favourable for the fungus. There are three factors favourable for the disease development: first, the basal pruned once are more prone to this fungal pathogen, than those cut at 30 cm and above from ground level; second, in the row system plantation, mounds are built around the stem base/stumps to facilitate irrigation, due to this, there is the formation of a favourable microclimate around stem base for the pathogen to make its entry inside the soft tissue of stem base; third, the spread of disease to the whole plantation will take place through irrigation, as it is already reported that the mycelial fragments and sclerotial structures of the fungus are uniformly distributed in the top 20-25 cm of soil (Adam, 1981).

In the present study, the principle involved in the cultural control is to protect the soft outer cortex tissue of the stem base coming directly in contact with the soil, by pruning the stem at 30 cm and above the ground level in pathogen infested fields.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in the field under irrigated condition. Plot size of 0.12 ha was marked for four treatments (each 30.18 m x 20.12 m, or 0.03 ha), in all cases three replicates within treatments (each 10.61 m x 10.61 m) were dispersed randomly in complete block design.

Isolation:

Isolation of the fungus was made from infected tissue which constantly yielded *S. rolfsii* and when inoculated onto healthy mulberry plants in the laboratory; produced a rapidly developing collar-rot identical to the one formed in the field. The same fungus was re-isolated and again produced the same symptoms upon inoculation of additional healthy plants. The reisolated fungus was used as inoculum for further studies.

Inoculum:

Inoculum was aseptically mass produced by transferring the fungus from one week old culture on PDA (Potato Dextrose Agar medium) to moist crushed cotton seeds in one litre conical flasks and 2-3 week incubation period for the pathogen. After incubation, cultures were air dried in open paper trays at room temperature (28C), ground to powder and stored in paper bags, which was used as dry ground inoculum. The amount of inoculum in dry ground inoculum was approximately 54 g. per replication. During the experiment the sclerotia from the soil sample was placed on moist filter paper in petri dishes, and incubated at 30C for 72 hours and percentage of germination recorded every month over a period of five months. The matured sclerotia remained viable all along.

Field inoculations:

Four year old plantation with 16 rows of 90 ± 2 plants for each replication, spacing at 70 cm x 70 cm apart and without paths inbetween treatments were made. The cultural practices for mulberry plants were done as usual. Each treatment viz., basecut (T₀), semi-low cut (30 cm, T₁), middle cut (50 cm, T₂) and high cut (80 cm, T₃) above ground level was done (Fig. 5).

Before inoculation, the inoculum was allowed to warm at room temperature for 24 hours, to prevent caking and later mixed with air-dried sand in the ratio of 1:1 to facilitate equal distribution of inoculum while broadcasting into field, furrows and mounds were built around stem manually after broadcasting. Broadcasting was done during the early hours and followed by irrigation upto 2 inches and thereafter as needed.

Disease evolution:

Generally, all three replications of each treatment were evaluated, stand counts in each replication were made shortly before inoculation (late August), 60 days after growth and inoculation, estimates were made for disease incidence and severity in each replication, surviving plants were counted of above ground symptoms and expressed in percent infection.

RESULTS

The pathogenicity of the fungus was confirmed by inoculating the healthy mulberry plants in laboratory, isolation made from infected tissue on PDA medium consistently yielded *S. rolfsii*, and when inoculated onto healthy plants in the pots, produced a rapidly developing collar-rot identical to that found in the field. The same was reisolated and again produced the same symptoms upon inoculation of additional healthy plants.

The experimental results from field inoculation studies (Table I) showed that, when plants are pruned at different levels and inoculated they showed different responses to the pathogen after 60 days. The statistical analysis (Table II) shows that the treatments T₁, T₂ and T₃ are significant over the treatment T₀ (which is taken as control in the experiment). Further, the rate of infection in the fungal inoculated plots under different treatments show varied degree of infection i.e., T₀ showing 93% infection (Fig. 1 & 2), T₁ showing 4.4% infection (Fig. 3), T₂ showing 0.7% infection (Fig. 4) and T₃ having none. Apart from the control of the disease, the production of mulberry under different treatments were also taken into account in the experiment. The mean of three harvests made during the three years period revealed that no significant difference (Table I) in production between T₀ and T₁. But the mulberry production in treatment T₂ and T₃ is significant over the others.

Treatment	Pruning type/	No of plants for 0.03 ha/	No of affected plants	Infection %/	No of shoots per plant (mean)/	Leaf yield per plant (mean)(g)/
Traitement	Type de taille	Nbre de plants pour 0,03 ha	Nbre de plants infectés	% d'infection	Nbre de tiges /plant (moyenne)	Rendement feuille/r plant (moyenne)(g)
T-0	Base cut/ <i>Taille basse</i>	272	254	93.0	13.37	544
T-1	Semi-low cut (30 cm) <i>Taille semi-basse</i>	272	12	4.4	13.25	540
T-2	Middle cut (50 cm) <i>Taille moyenne</i>	272	2	0.7	14.28	630
T-3	High cut (80 cm) <i>Taille haute</i>	272	0	0.0	-	662

Table I. Percentage of infection and productivity of mulberry under different pruning systems.

Tableau I. Pourcentage d'infection et productivité du mûrier selon la méthode de taille

DISCUSSION

Garret (1970) broadly classified primitive and advanced pathogens in root infecting fungi. The genus *Sclerotium* is to be considered as primitive pathogen as it destroys the host plants during the immature stages and is restricted by the matured host tissue.

The collar-rot of mulberry is attributed to *Sclerotium rolfsii*, primarily caused due to the contact of pathogen infested soil with the soft cortex tissue of the stem base. The pathogen continues to attack mulberry stems; though antifungal substances are known to occur endogeneously in thin layers of epidermal tissue of shoot cortex and in the xylem, like Moracin A-Z, produced on infection by fungi as reported by Takahashi and Shirata (1982) in mulberry.

Several other workers have used antagonistic organisms and mycoparasites against *S. rolfsii* (Ayers and Adams, 1981; Mahmoud *et al.*, 1980; Tokeshi *et al.*, 1980). Punja *et al.* (1982) have shown that with individual fungicides and other chemicals, *S. rolfsii* can be controlled. Application of fungicides or fumigants to control the pathogen in the field is not economical, since the mulberry plantation occupies a large area and also because of the cost of fungicides.

Fig. 1. Post-infection stage showing shoot fall. Arrow shows the pathogen *S. rolfsii*.

Fig. 1. Stade post-infection montrant la chute des tiges. La flèche indique le pathogène S. rolfsii.

Fig. 2. Base pruned plants with mound around stem base.

Fig. 2. Plants taillés à la base avec butée.

Fig. 3 & 4. Disease culturally controlled (semi-low cut and middle cut plants respectively).

Fig. 3 & 4. Maladie contrôlée par des méthodes de culture (tailles semi-basse et moyenne)



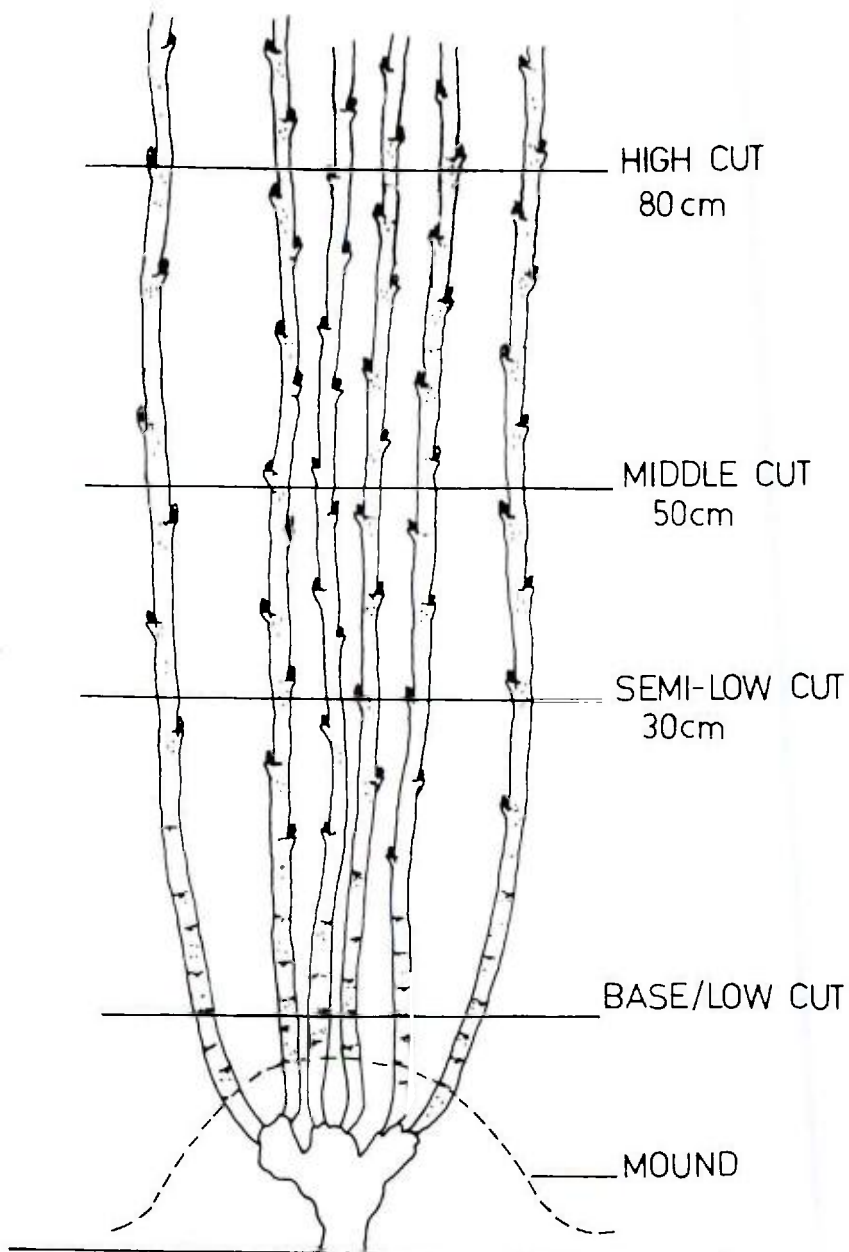


Fig. 5. Figure showing different pruning methods adopted in mulberry plants.

Fig. 5. Différentes méthodes de taille des plants de mûrier.

Treatment	Affected plants (mean)	Healthy plants (mean)	Mean standard variation (variance)	Coefficient of variation (%)
<i>Traitement</i>	<i>Plants infectés (moyenne)</i>	<i>Plants sains (moyenne)</i>	<i>Ecart-type moyen (variance)</i>	<i>Coefficient de variation (%)</i>
T-0	23.6	-	2.25	6.47
T-1	-	23.90	1.29	4.75
T-2	-	24.81	0.16	1.63
T-3	-	25.00	0.00	0.00

Note: The mean standard deviation and coefficient of variation (%) were calculated for affected plants in T-0 (base cut), and for healthy plants in other treatments.

Note : L'écart-type moyen et le coefficient de variation (%) ont été calculés pour les plants infectés dans le cas de T-0 (taille basse) et dans les autres cas pour les plants sains.

Table II. Control of the disease under various pruning systems.

Tableau II. Contrôle de la maladie selon les différentes méthodes de taille.

CONCLUSION

The pathogenicity test has confirmed that the fungus *Sclerotium rolfsii* Sacc. is a pathogen of mulberry plants causing collar-rot disease. The field experiments have shown that by pruning the stem at 30 cm and above the ground level in pathogen infested fields, the disease can be effectively controlled. The hard cortex tissue around the developed stem prevents the entry of the pathogen due to the nutrients deprivation and failure to penetrate inside the hard cortex tissue. Further, improvement in the mulberry yield was observed.

REFERENCES

- ADAMS P.B. (1981), Forecasting onion white rot disease. *Phytopathology*, 71(11), 1178-1181.
 ANONYMOUS (1960), Index of plant disease. In: United States Agri. Handbook No. 165, USDA, Washington D.C., p. 531.

ANONYMOUS (1980), Insect pests and diseases of mulberry trees. In: Textbook of tropical sericulture, Japan Overseas Cooperation Volunteers, 2nd print, 260-281.

AYERS W.A., ADAMS P.B. (1981), Mycoparasitism of sclerotial fungi by *Teratosperma oligocladium*, Can. J. Microbiol., 27(9), 886-892.

GARRETT S.D. (1970), Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge Univ. Press, p. 294.

MAC FARLANE H.H. (1968), Review of applied mycology plant host-pathogen index (1922-1968). CMI, Kew (England).

MAHMOUD S.A.Z., HAMED A.S., ZAKI M.M., AMIN S.I. (1980), Soil and rhizosphere microflora of squash and broad bean plants as affected by *Sclerotium rolfsii* and the biological control of root-rot disease. Egypt J. Microbiol., 15(1/2), 41-52.

PUNJA Z.K., GROGAN R.G., UNRUH J. (1982), Chemical control of *Sclerotium rolfsii* on golf greens in Northern California, USA. Plant disease, 66(2), 108-111.

TOKESHI H., VALDE BENITO R.M., DESOUZA N.L., SHIMURA YOKOMIZO N.K. (1980), Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sp. on sugarcane. Summa Phytopathol., 6(1/2), 95-101.

TAKAHASHI K., SHIRATA A. (1982), Production of antifungal substances in mulberry. JARQ, 16(2), 119-124.

LUTTE CONTRE LA MALADIE DU POURRISSEMENT DU COLLET DU MURIER (*MORUS ALBA* L.) PAR LES PRATIQUES CULTURALES

B.R. DAYAKAR YADAV et A.R. KASTURI BAI Mriculture Division, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalagattapura, Bangalore 560 062, Inde.

*Cet article présente avec des illustrations les méthodes culturales adoptées pour lutter contre la maladie du pourrissement du collet provoquée par le champignon *Sclerotium rolfsii* Sacc. chez *Morus alba* var. Kanva-2, qui représente la plante nourricière majeure des vers à soie *Bombyx mori* L. Nous avons étudié la symptomatologie, l'étiologie et la pathogénicité du champignon. Les résultats de l'expérience montrent que les plants de mûrier ne sont plus attaqués par le champignon lorsqu'on adopte les nouvelles méthodes de taille à savoir : la taille semi-basse (à 30 cm), la taille moyenne (à 50 cm) et la taille haute (à 80 cm). Cette méthode s'est avérée la plus économique et efficace. On a également observé une amélioration de la productivité du mûrier.*

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus alba* L.), que l'on trouve à la fois dans les régions tropicales et tempérées du globe, est un arbre qui peut atteindre 5 m de haut ou plus dans des conditions favorables d'environnement. Il représente la nourriture exclusive des vers à soie *Bombyx mori* L. L'Etat du Karnataka fournit les trois quarts de la production indienne de soie et la sériciculture dépend de la culture de la variété Kanva-2 du mûrier, sélectionnée après hybridation pollinisée ouverte à partir d'une population de *Morus alba* L.

Au début et à la fin de la mousson d'août à novembre), nous avons observé le pourrissement du collet provoqué par un champignon du sol, *Sclerotium rolfsii* Sacc., qui a continué à se développer dans le sol des plantations de mûrier irriguées. Cette maladie a spécialement retenu notre attention à cause de sa gravité et de son importance économique pour l'industrie séricicole. La littérature montre que cette maladie est apparue en premier en Inde (Anonyme, 1960, 1980 ; Mac Farlane, 1968, 1982). Les premiers symptômes de la maladie sont l'apparition d'une zone de tissus spongieux brun foncé à noir sur l'écorce du tronc près du sol qui entoure rapidement le tronc et éventuellement s'élargit vers le haut et vers le bas ; sur la partie infectée des structures mycéliennes blanches avec des corps sclérotiques rosâtres puis brun foncé apparaissent sur les tissus morts. Une fois que la base du tronc est infectée, le plant entier s'affaisse sur le sol (Fig. 1).

Dans l'Etat du Karnataka, le système de plantation en rang est le plus utilisé dans les mûraies. Les plants adultes sont taillés à la base deux à cinq fois par an dans les plantations irriguées et une fois par an dans les autres plantations, ce qui coïncide avec les conditions favorables au champignon. Il y a trois facteurs favorables au développement de la maladie : 1) les plants taillés à la base sont plus sensibles au pathogène que ceux qui sont taillés à 30 cm et plus au dessus du sol, 2) dans le système de plantation en rang, des butées sont formées à la base des plants pour faciliter l'irrigation, ceci favorise la formation d'un micro-climat autour de la base du tronc qui permet au pathogène de pénétrer à l'intérieur des tissus souples de la souche, 3) l'extension de la maladie à toute la plantation a lieu

grâce à l'irrigation, puisqu'il a été observé (Adams, 1981) que les fragments mycéliens et les structures sclérotiques du champignon sont répartis de manière uniforme dans les 20-25 cm supérieurs du sol.

Le principe qui sous-tend notre étude est de protéger les tissus externes souples du cortex situés à la base du tronc en contact direct avec le sol, en taillant le tronc 30 cm et plus au-dessus du niveau du sol dans les plantations infectées.

MATERIEL ET METHODES

L'expérience a été réalisée dans une plantation irriguée. Des parcelles de 0,12 ha ont été divisées en 4 lots avec 4 traitements (Chaque lot de 30,18 m x 20,12 m ou 0,03 ha) ; dans tous les cas de traitements, trois replicatas ont été faits (chacun de 10,61 m x 10,61 m) et répartis au hasard.

Isolement :

L'isolement du champignon a été effectué à partir de tissus infectés qui produisent *S. rolfisii* en permanence et qui, lorsqu'ils sont inoculés à des plants de mûrier sains dans le laboratoire, produisent rapidement un pourrissement du collet identique à celui rencontré dans les plantations. Le même champignon a été isolé de nouveau et a encore produit les mêmes symptômes lors de son inoculation chez d'autres plants sains. Le champignon re-isolé a été utilisé comme inoculum pour de nouvelles études.

Inoculum :

L'inoculum est produit en masse de façon aseptique en transférant le champignon d'une culture d'une semaine sur PDA (milieu gélosé de dextrose de pomme de terre) à des graines de coton pilées dans des flacons coniques d'un litre pendant une période de 2 à 3 semaines d'incubation. Après l'incubation, les cultures sont séchées à l'air sur des claies en papier à température ambiante (28°C), réduites en poudre et conservées dans des sacs en papier. Le tout étant utilisé comme inoculum sec en poudre. La quantité d'inoculum en poudre est d'environ 54 g par replication. Au cours de l'expérience, la sclérotia provenant de l'échantillon de sol est placée sur du papier filtre humide dans des boîtes de Pétri et incubée à 30°C pendant 72 h, le pourcentage de germination enregistré chaque mois pendant 5 mois et la sclérotia mature reste viable tout du long.

Inoculations sur le terrain :

Une plantation de 4 ans avec 16 rangs de 90 ± 2 plants a été faite pour chaque replicata, avec un espacement de 70 cm x 70 cm sans passage entre les lots avec traitements différents. Les méthodes culturales sont celles utilisées habituellement. Chaque traitement : taille basse (T₀), taille semi-basse (30 cm, T₁), taille moyenne (50 cm, T₂) et taille haute (80 cm, T₃) est réalisé (Fig. 5).

Avant l'inoculation, l'inoculum est mis à tiédir à température ambiante pendant 24 h, pour éviter l'agglutination, puis mélangé avec du sable séché à l'air dans la proportion de 1:1 pour faciliter la répartition de l'inoculum lors de l'épandage dans le terrain. Des sillons et des butées sont faits autour des souches après l'épandage. L'épandage est effectué tôt le matin et est suivi par une irrigation de 2 pouces maximum et ensuite selon les besoins.

Evolution de la maladie :

En général, nous avons évalué chacune des trois replications de chaque traitement ; les dénombrements sont faits pour chaque replication juste avant l'inoculation (fin août), 60 jours après la croissance et l'inoculation ; des estimations de la fréquence et de la gravité de la maladie sont faites pour chaque replication, sur les plants ayant survécu les effets de la maladie apparaissant au-dessus du sol sont observés et exprimés en pourcentage d'infection.

RESULTATS

La pathogénicité du champignon est confirmée par l'inoculation des plants de mûrier sains au laboratoire. L'isolat de tissus infectés sur milieu gélosé de dextrose de pomme de terre a produit des quantités importantes de *S. rolfisii* et a rapidement donné lieu lors de l'inoculation sur des plants sains à un pourrissement du collet identique à celui observé sur le terrain. Nous avons isolé de nouveau ces tissus infectés et avons observé les mêmes symptômes après inoculation sur de nouveaux plants sains. Les résultats des expériences d'inoculation sur le terrain (Tableau I) montrent que les plants répondent de manière différente à l'attaque du pathogène après 60 jours selon la taille qu'ils ont subie. L'analyse

statistique (Tableau II) montre que les traitements T_1 , T_2 et T_3 donnent des résultats significativement différents au traitement T_0 (qui est pris comme témoin dans l'expérience). De plus, le taux d'infection varie selon les différents lots inoculés et selon les traitements effectués : T_0 donne 93 % d'infection (Fig. 1 et 2) ; T_1 donne 4,4 % d'infection (Fig. 3) ; T_2 , 0,7 % d'infection (Fig. 4) et T_3 , 0 %. Outre la lutte contre la maladie, nous avons aussi étudié la production du mûrier selon les traitements. La moyenne de trois récoltes faites au cours des trois années de l'étude n'est pas différente significativement entre T_0 et T_1 (Tableau I) mais la production du mûrier soumis aux traitements T_2 et T_3 est significativement différente par rapport aux autres traitements.

DISCUSSION

Garret (1970) a classé les champignons infectant les racines en pathogènes primitifs et évolués. Le genre *Sclerotium* est considéré comme un pathogène primitif car il détruit la plante hôte au cours des stades immatures et est limité par les tissus matures de l'hôte. Le pourrissement du collet chez le mûrier est attribué à *Sclerotium rolfsii*, et est causé au départ par le contact du sol infecté avec les tissus souples du cortex de la base du tronc. Le pathogène continue à attaquer les troncs de mûrier, bien que des substances antifongiques endogènes apparaissent en fines couches sur les tissus épidermiques du cortex de la tige et dans le xylème, comme les Moracines A-Z, produites lors d'infections fongiques (Takahashi et Shirata, 1982).

Plusieurs autres chercheurs ont utilisé des organismes antagonistes et des mycoparasites contre *S. rolfsii* (Ayers et Adams, 1981 ; Mahmoud *et al.*, 1980 ; Tokeshi *et al.*, 1980). Punja *et al.* (1982) ont montré que les fongicides individuels associés à d'autres produits chimiques peuvent lutter contre *S. rolfsii*. L'utilisation de fongicides ou fumigations pour lutter contre le pathogène sur le terrain n'est pas économique car la plantation de mûrier occupe beaucoup de surface et aussi à cause du coût des fongicides.

CONCLUSION

Le test de pathogénicité confirme que le champignon *Sclerotium rolfsii* Sacc. est un pathogène des plants de mûrier responsable du pourrissement du collet. Les expériences sur le terrain montrent que l'on peut vaincre la maladie en taillant la souche à 30 cm et plus au dessus du niveau du sol dans les plantations infectées. Les tissus durs du cortex autour de la souche développée empêchent la pénétration du pathogène qui est privé de ses éléments nutritifs et ne peut pénétrer à l'intérieur des tissus durs du cortex. De plus, nous avons observé une amélioration de la productivité du mûrier.

MORPHOLOGICAL, ECOLOGICAL AND MEIOTIC STUDIES IN FOOD PLANTS OF TROPICAL TASAR SILKWORM (*ANTHERAEA MYLITTA* D.)

MUNIRAJAPPA and V.C. JAYARAMAIAH, R & D Programme in Sericulture, Bangalore
University, Central College (P.K. Block) Bangalore 560 009, India.

The present work deals with detailed exomorphic features, distribution and meiotic behaviour in six species of Terminalia which are found to occur in the forests of Karnataka (South India). Among them, the taxa T. tomentosa, W. & A. T. Arjuna, W. & A., T. paniculata, Roth, and T. catappa, Linn., are closely related in having the diploid chromosome number $n=12$. On the other hand, T. chebula, Retz., and T. bellerica Roxb., show close affinity between each other with regard to the chromosome number ($n=24$) both being tetraploids. They are all tree forms although they differ in other exomorphic features. The differences between these species lie essentially in the fruit character. Ecologically also these taxa are found in different climatic conditions. The normal meiotic behaviour in all of them suggests their good fertility. Their occurrence under different climatic conditions are indicative of their potentiality of ecological adaptations in different habitats.

INTRODUCTION

Tasar silk is considered as one of the important minor forest products. It is secreted mostly by the tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. This "Wild silkworm" is polyphagous in nature and mainly feeds on the leaves of *Terminalia*, *Shorea*, *Anogeissus* and *Zizyphus*. In recent years, this non-mulberry silk industry is attracting more attention as it provides job opportunities especially to the tribal folk.

Although there has been scientific curiosity in the non-mulberry silk production for the last several decades, attempts have been negligible regarding the selection and the improvement of host plants. The identification and classification of *Terminalia* species have become difficult because of the occurrence of numerous transitional forms which are supposed to have arisen by hybridization. Further, there is considerable difference of opinion among taxonomists with regard to the number of species and varieties. For instance, Hooker (1885) has recorded three different varieties under *T. tomentosa* based on morphological characters. Hence, biosystematic studies are wanting to evaluate their taxonomic status. The present paper deals with detailed exomorphic features, distribution and meiotic behaviour in six species of *Terminalia* which are collected from different localities of Karnataka (South India).

MATERIALS AND METHODS

Taxa investigated in the present study were collected from populations growing wild in the forests of Karnataka State (India). The taxonomic characters of the plants were recorded in their habitat. They were later checked with the descriptions in the regional flora and provisional identifications were made. The identifications were got confirmed by the Regional Botanist, Botanical Survey of India, Coimbatore, Tamil Nadu. Herbaria were prepared from suitable twigs in flowering

Taxa	Locality and habitat	Salient morphological characters
<i>T. tomentosa</i> (Vernacular name : Karimathi)	Bannerghatta, Agumbe and Sagar: Scrubby, deciduous and ever- green forests.	A large tree with spreading branches; bark black with deep, longitudinal fissures and transverse cracks; leaves ovate-elliptic with 1-2 glands near the base; flowers dull yellow, polygamous; fruit ovoid, 5-winged, wing membranous and veined.
<i>T. arjuna</i> (Bilimathi or Thoremathi)	Bannerghatta, Agumbe and Devarayanadurga: common along rivers, streams, ravines and dry water-courses; often planted for shade in avenues.	A large tree with spreading crown and drooping branches; bark whitish, smooth, exfoliating in large, thin, irregular sheets; leaves oblong or elliptic with a pair of glands at the top of the petioles; flowers small, bisexual, often polygamous; fruit ovoid-oblong, 5 hard winged angles present
<i>T. paniculata</i> (Huluve)	Bannerghatta and Sakaleshpur: Scrubby, deciduous and ever- green forests.	Tree; bark dark brown; leaves oblong, coriaceous; flowers small, bisexual; fruit 1.0-2.0 cm long, brown, 3-winged, with one very broad and two narrow wings.
<i>T. catappa</i> (Indian Almond tree)	Bangalore (Lalbaugh Botanical Gardens): Cultivated, often planted along road side as shady tree.	Tree, bark grey, smooth; leaves obovate, large, usually crowded at the ends; flowers white, small, polygamous; fruit ellipsoidal, compressed, wings absent, yellowish or brownish
<i>T. chebula</i> (Halale)	Savandurga and Devarayanadurga: Scrubby and deciduous forests (common on rocky areas)	Tree with a cylindrical bole and spreading branches; bark dark brown, often longitudinally cracked; leaves ovate-lanceolate with a pair of glands at the top of the petiole; fruit ellipsoidal, wings absent, often ribbed, yellowish.
<i>T. bellerica</i> (Thare)	Sringeri, Agumbe; Chickmagalur, Madakeri and Bannerghatta: Evergreen and deciduous forests, often culti- vated in coffee plantation as a shady tree.	A moderate sized tree; bark grey; leaves broadly elliptic; clustered at the ends; flowers polygamous, small and yellow; fruit globular, smooth, wings absent, ash coloured.

Table I. Habitat and salient morphological characters of the species of *Terminalia* Linn.

condition and the herbarium sheets of all the collections are deposited in the Sericulture Department, Bangalore University, Bangalore.

For meiotic studies, young inflorescence were fixed in acetic-alcohol (1:3) for about 24 to 48 hours. This was followed by 1 or 2 changes in fresh fixatives. Micro-preparations were made using the simple aceto-carmine (1.5%) smear technique. PMC's which would reveal clear cytological details were selected for observations and desired stages were photographed.

RESULTS AND DISCUSSION

All species of *Terminalia* Linn., (Combretaceae) are important timber yielding plants distributed in the warm and humid climates of the world, especially in the tropical parts. This genus consists of about 120 species of which about 16 species occur in India (Airy Shaw 1973; Anonymous 1976). The genus is of importance in India for timber. The timber is employed for carts, agricultural implements, electric poles, boat building and for other domestic purposes. The leafy branches, bark and fruit are also valuable. The branches are lopped for leaf manure. Bark and the fruit contain tannin and are used for dyeing and tanning. The kernels of some species are edible. Besides, the leaves of *T. tomentosa* and *T. arjuna* serves as a chief feed for tropical tasar silkworm *A. mylitta* D. (Jolly *et al.* 1974, 1975).

Of twelve species occurring in South India (Beddome 1978, Gambel 1935), six have been collected from different localities in the present work. Among them, the taxa *T. tomentosa*, *T. arjuna*, *T. paniculata* and *T. catappa* are closely related in having the diploid number $n=12$. They are all tree forms although they differ in other exomorphic features. The differences between these species lie essentially in the fruit character. In case of *T. tomentosa*, fruit is ovoid, 5-winged drupe; wings are comparatively broad, membranous and horizontally veined (Fig. 9), whereas in *T. arjuna*, fruit is 5-winged but wings are narrow, hard and blunt (Fig. 10). *T. paniculata* differs from the above two species in possessing 3-winged fruit. Out of three wings, one is long and the other two are short (Fig. 11). *T. catappa* deviates from other diploid species in several aspects. The leaves are relatively large; fruit oblong, compressed and devoid of wings (Fig. 13). Ecologically, these taxa are also found in different climatic conditions (See Table I).

On the other hand, *T. chebula* and *T. bellerica* show close affinity between each other with regards to the chromosome number ($n=24$) both being tetraploids. However, they differ in exomorphic features. Thus, *T. chebula* possesses ovate-lanceolate leaves, fruit oblong-ovoid, wings are absent, yellowish, often ridged (Fig. 12). In *T. bellerica*, leaves are broad; fruit round, smooth, wings are absent, ash coloured (Fig. 14). Further, these two taxa appear to adapt to different climatic conditions. *T. chebula* is found growing on rocky areas in scrubby and deciduous forests with moderate rainfall and hot climate, whereas *T. bellerica* occurs abundantly in evergreen forest where cooler climate is encountered. Thus, the different taxa under the same base number show marked morphological diversity and occur under different habitats.

Meiotic study shows the presence of twelve bivalents at diakinesis in *T. tomentosa*, *T. arjuna*, *T. paniculata* and *T. catappa*, while *T. chebula* and *T. bellerica* revealed the presence of twenty four bivalents at diakinesis. In general, majority of the bivalents are closed type having terminal chiasmata in most of the bivalents. Pairing regions are very lightly stained. Usually, two bivalents are associated with the nucleolus. In all the taxa, the behaviour of chromosomes at late anaphase-I is also normal showing perfect disjunction and the distribution of equal number of chromosomes to the poles. Second meiotic divisions are also normal. The normal meiotic behaviour in all of them suggests their good fertility and stabilized condition. Obviously, all the six taxa behave as good species.

The foregoing observations reveal that the six species studied here show the diploid ($n=12$) and tetraploid ($n=24$) chromosome numbers (Figs. 1 to 8). These results clearly exhibit that the genus *Terminalia* enjoys the base number $x=12$. Polyploids have been found in *T. chebula* and *T. bellerica*. These tetraploid species show closed bivalents having terminal and interstitial chiasmata at diakinesis and do not show any meiotic irregularities. These features are indicative of good pairing. Thus, allopolyploidy might have played a dominant role in speciation. However, the role of chromosome repatterning in their evolutionary history cannot be ruled out. Further, cytologically all the six species resemble one another in the gross karyomorphological features. Yet, they differ in absolute length of chromosomes, relative arm length and position of centromere (Munirajappa and Jayaramaiah, 1985).

Figure 1: Diakinesis showing 12 bivalents (*T. tomentosa*)

Diakinèse montrant 12 bivalents (T. tomentosa).

Figure 2: Metaphase-I showing 12 bivalents (*T. arjuna*)

Métaphase-I montrant 12 bivalents (T arjuna).

Figure 3: Diakinesis showing 12 bivalents (*T. paniculata*)

Diakinèse montrant 12 bivalents (T. paniculata).

Figures 4 & 5 : Metaphase-I showing 12 bivalents and Anaphase-I showing equal distribution of chromosomes respectively (*T. catappa*).

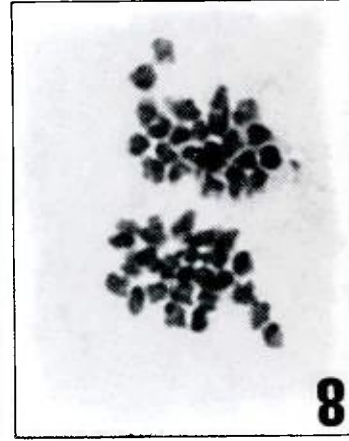
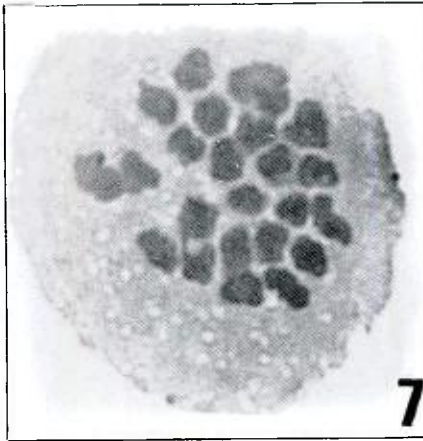
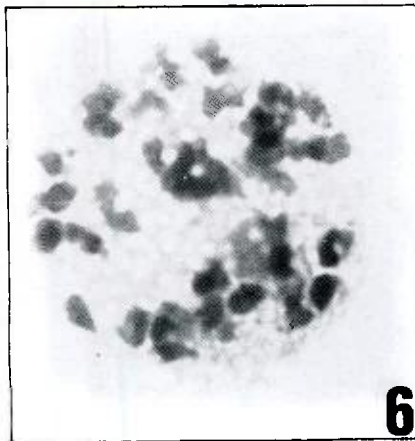
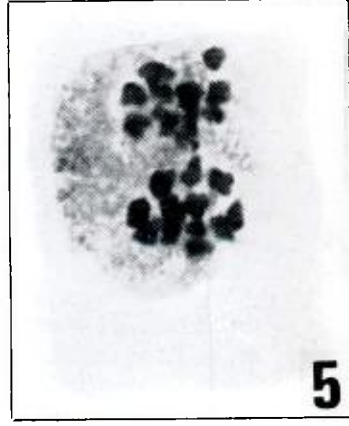
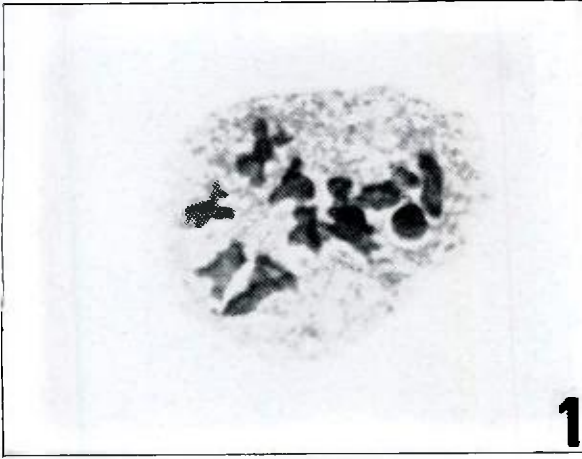
Métaphase-I montrant 12 bivalents et Anaphase-I montrant respectivement la distribution égale des chromosomes (T. catappa).

Figure 6: Late diakinesis showing 24 bivalents (*T. chebula*)

Diakinèse tardive montrant 24 bivalents (T. chebula).

Figures 7 & 8: Metaphase-I showing 24 bivalents and Anaphase-I showing equal distribution of chromosomes respectively (*T. bellerica*).

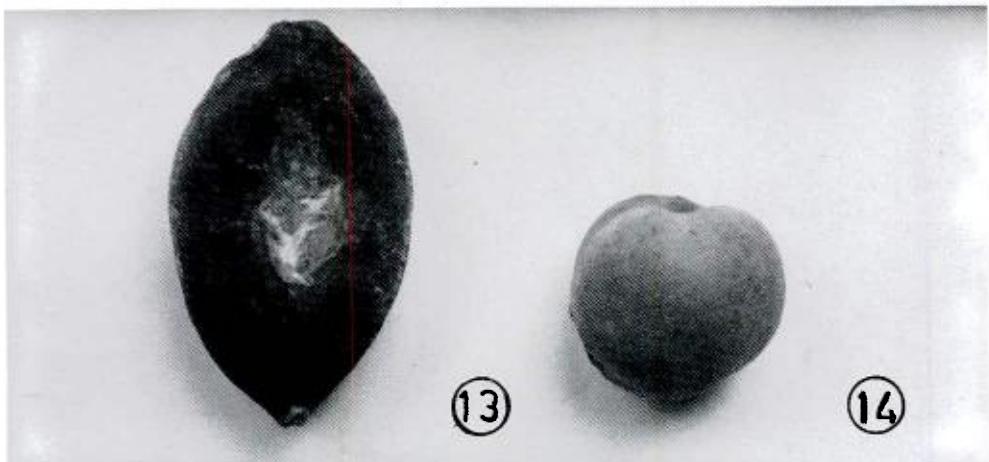
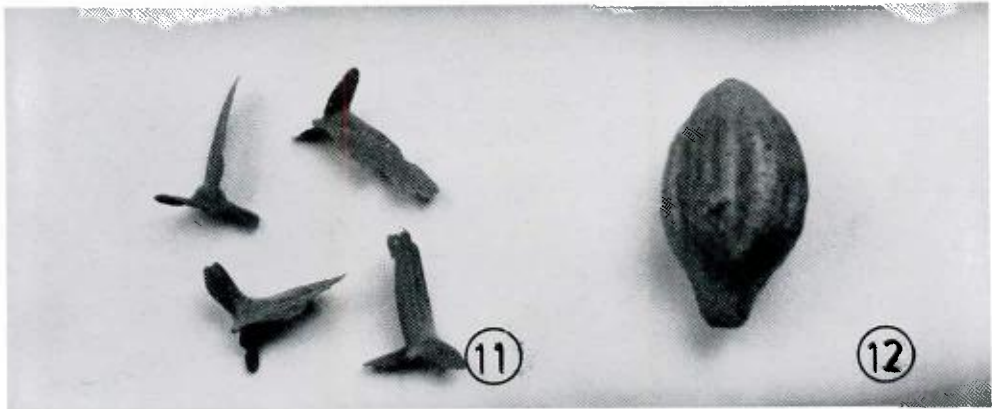
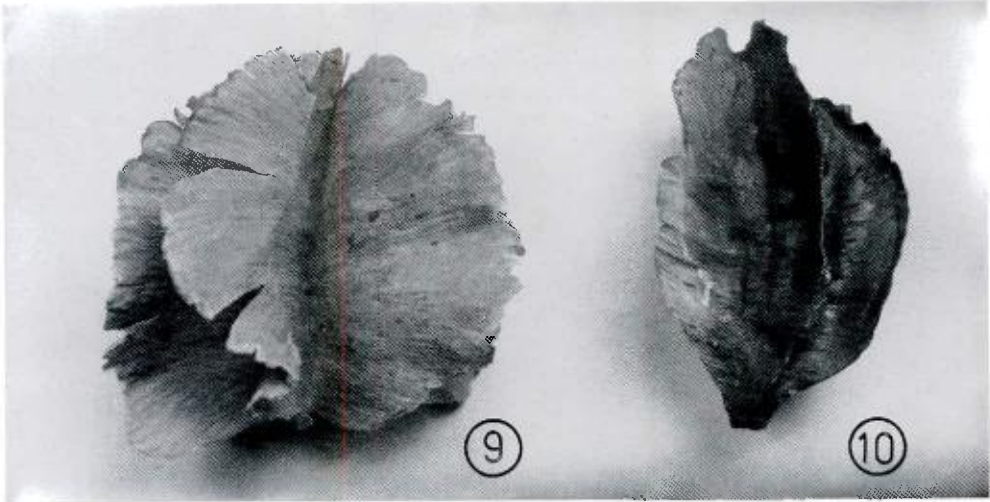
Métaphase-I montrant 24 bivalents et Anaphase-I montrant respectivement la distribution des chromosomes (T. bellerica).



Figures 9, 10, 11, 12, 13, 14:

Fruit of *T. tomentosa*, *T. arjuna*, *T. paniculata*, *T. chebula*, *T. catappa* and *T. bellerica* respectively

Fruits de T. tomentosa, T. arjuna, T. paniculata, T. chebula, T. catappa et T. bellerica respectivement.



Different species seem to have arisen through hybridization and doubling of chromosomes from an unknown ancestor. Probably they have monophyletic origin. Their occurrence under different climatic conditions are indicative of their potentiality of ecological adaptations in different habitats. However, large number of species are yet to be investigated for a precise cytotaxonomic assessment of the genus as a whole.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Dr. D.G. Krishnappa, Professor and Head, Department of Botany, Jnana Bharathi, Bangalore University, Bangalore, for useful discussion.

REFERENCES

- AIRY SHAW H. K. (1973), A dictionary of flowering plants and ferns (Revised edition 8), by Willis J.C., Cambridge University Press.
- ANONYMOUS, 1976, The Wealth of India, CSIR, New Delhi, 157-158.
- BEDDOME MAJOR R.H.(1978), The Flora Sylvatic for Southern India (Reprinted edition), Periodical expert book agency, Delhi and International book distributors, Dehradun, India.
- GAMBLE J.C., (1935), Flora of the Presidency of Madras. Botanical Survey of India, Calcutta, India, 1, 327-330.
- HOOKE J.D. (1885), Flora of British India, L. Reeve and Co. Ltd., England, 2, 443-449.
- JOLLY M.S., SEN S.K., AHSAN M.M.,(1974) Tasar Culture, Ambina publishers, Bombay, India.
- JOLLY M.S., CHOWDARY S.N., SEN S.K. (1975), Non-mulberry Sericulture in India, Central Silk Board, India.
- MUNIRAJAPPA, JAYARAMAIAH V.C. (1985), Cytological studies in food plants of tropical tasar silkworm (*A. mylitta* D.), Sericologia, 25(1), 17-25.

ETUDES MORPHOLOGIQUES, ECOLOGIQUES ET MEIOTIQUES DES PLANTES NOURRICIERES DU VER A SOIE TROPICAL TASAR (ANTHERAEA MYLITTA D.)

MUNIRAJAPPA and V.C. JAYARAMAIAH, R & D Programme in Sericulture, Bangalore University, Central College (P.K. Block), Bangalore 560 008, Inde.

Le présent travail traite des caractères morphologiques, de la distribution et du comportement méiotique chez six espèces de *Terminalia* se trouvant dans les forêts du Karnataka (Sud de l'Inde). Parmi eux, les taxa *T. tomentosa*, W & A, *T. arjuna*, W & A, *T. paniculata*, Roth et *T. catappa*, Linn., sont étroitement liés en raison du nombre diploïde de chromosomes $n=12$. D'autre part, *T. chebula*, Retz, et *T. bellerica*, Roxb., présentent une étroite affinité l'un avec l'autre, en raison du nombre de chromosomes ($n=24$), tous deux étant tétraploïdes. Ils sont tous arborescents bien qu'ils diffèrent par d'autres traits morphologiques. Les différences entre ces espèces sont sensibles surtout pour les caractères du fruit. D'un point de vue écologique, il faut signaler que ces taxa se trouvent dans différentes conditions climatiques. Leur comportement méiotique normal laisse supposer une bonne fertilité. Leur présence sous différents climats indique leur potentiel d'adaptation écologique dans différents habitats.

INTRODUCTION

La soie Tasar est considérée comme un important produit secondaire de la forêt. Elle est secrétée principalement par le ver à soie tropical tasar *Antheraea mylitta* D. Ce "ver à soie sauvage" est de nature polyphage et se nourrit surtout de feuilles de *Terminalia*, *Shorea*, *Anageissus*, et *Zizyphus*. Ces dernières années, cette industrie de la soie sauvage a attiré de plus en plus l'attention car elle est une source d'emploi surtout dans les sociétés tribales.

En dépit d'une curiosité scientifique pour la production de soie sauvage qui s'est fait sentir ces dernières années, les essais de sélection et d'amélioration des plantes-hôte ont été négligeables. L'identification et la classification des espèces *Terminalia* est devenue difficile en raison de la présence de nombreuses formes de transition qui ont dû se produire par hybridation. De plus, il existe des différences considérables parmi les taxonomistes, en ce qui concerne le nombre des espèces et des variétés. Par exemple, Hooker (1985) a enregistré trois variétés différentes de *T. tomentosa*, à partir de leurs caractères morphologiques. C'est pourquoi des études biosystématiques tentent de déterminer leur statut taxonomique. Le présent article traite des caractères morphologiques précis, de la distribution et du comportement méiotique chez six espèces de *Terminalia* qui ont été récoltées dans diverses localités du Karnataka (Sud de l'Inde).

MATERIELS ET METHODES

Les taxa étudiées dans cette étude ont été récoltées parmi les populations sauvages des forêts de l'Etat du Karnataka (Inde). Les caractères taxonomiques des plantes ont été enregistrés dans leur habitat. Des vérifications ont été faites ensuite à partir des descriptions des flores régionales et des identifications provisoires ont été effectuées. Ces identifications ont été confirmées par le Regional Botanist, Botanical Survey of India, Coimbatore, Tamil Nadu. Des herbiers ont été préparés avec des

branches en fleur et les feuilles de cet herbier ont été déposées au Department of Sericulture, Bangalore University, Bangalore.

Pour effectuer les études méiotiques, les jeunes inflorescences sont fixées dans l'alcool-acide acétique (1:3) pendant 24 à 48 heures. On les passe ensuite dans un ou deux fixateurs frais. Des micro-préparations sont effectuées par la méthode du frottis carminacétique simple. Les préparations qui permettent de révéler des détails cytologiques nets sont sélectionnés pour l'observation et des photos sont prises aux divers stades voulus.

RESULTATS ET DISCUSSION

Toutes les espèces de *Terminalia* Linn. (Combretaceae) sont des plantes donnant beaucoup de bois, disséminées sous les climats chauds et humides du monde, particulièrement dans les zones tropicales. Ce genre comprend environ 120 espèces dont 16 se trouvent en Inde (Airy Shaw, 1973; Anonyme, 1976). Ce genre est important en Inde pour son bois. Le bois est employé pour les charrettes, le matériel agricole, les poteaux électriques, la construction des bateaux et pour d'autres usages domestiques. Les branches en feuilles, l'écorce et les fruits sont également précieux. Les branches feuillues sont élaguées pour faire de l'engrais. L'écorce et les fruits contiennent du tannin et sont utilisés pour la teinture et le tannage. Les graines de certaines espèces sont comestibles. A part cela, les feuilles de *T. tomentosa* et de *T. arjuna* sont les principales plantes nourricières du ver à soie tasar tropical *A. mylitta* D. (Jolly et al., 1974, 1975).

Parmi les douze espèces se trouvant en Inde du Sud (Beddome 1978, Gamble 1935) nous en avons récolté six pour cette étude. Parmi elles, *T. tomentosa*, *T. arjuna*, *T. paniculata* et *T. catappa* sont très proches car elles ont le même nombre diploïde de chromosomes $n=12$. Elles sont toutes arborescentes tout en différant par d'autres caractères morphologiques. Les différences entre ces espèces se situent essentiellement dans les caractéristiques du fruit. Dans le cas du *T. tomentosa*, le fruit est ovoïde, drupe à cinq ailes, les ailes sont comparativement larges, membraneuses et veinées horizontalement (Fig. 9), tandis que le fruit de *T. arjuna* possède cinq ailes, mais celles-ci sont étroites dures et pointues (Fig. 10). *T. paniculata* se distingue des deux espèces citées ci-dessus par un fruit à trois ailes. L'une est longue et les deux autres sont courtes (Fig. 11). *T. catappa* se différencie des autres espèces diploïdes de plusieurs manières. Les feuilles sont relativement grandes, le fruit est oblong, comprimé et dépourvu d'ailes (Fig. 13). Ecologiquement, ces espèces se trouvent sous différentes conditions climatiques (cf. Tableau I.)

D'autre part, *T. chebula* et *T. bellerica* présentent une affinité étroite, en ce qui concerne le nombre chromosomique ($n = 24$), les deux étant tétraploïdes. Pourtant leur traits morphologiques diffèrent. Ainsi, *T. chebula* possède des feuilles ovales-lancéolées, un fruit oblong-ovoïde, sans aile, jaunâtre, souvent strié (Fig. 12). Les feuilles de *T. bellerica* sont larges ; le fruit est rond lisse, sans aile, de couleur cendre (Fig. 14). De plus, ces deux espèces s'adaptent à différentes conditions climatiques. *T. chebula* pousse dans les zones rocailleuses, dans les broussailles et les forêts feuillues avec des chutes de pluie modérées, un climat chaud, alors que *T. bellerica* se trouve en abondance dans les forêts à feuillage persistant, sous un climat plus frais. Ainsi, les différentes espèces ayant le même nombre chromosomique de base, présentent une diversité morphologique et se rencontrent dans différents habitats.

L'étude méiotique montre la présence de douze bivalents à la diakinèse chez *T. tomentosa*, *T. arjuna*, *T. paniculata* et *T. catappa*, alors que chez *T. chebula* et *T. bellerica*, 24 bivalents sont présents. En général, les bivalents sont en majorité de type voisin, en raison de leur chiasma terminaux. Les zones d'appariement sont légèrement teintées. Habituellement, deux bivalents sont associés au nucléole. Chez tous les taxa, le comportement des chromosomes à la fin de l'anaphase - I est également normal et montre une disjonction parfaite et une distribution égale des chromosomes aux pôles. Les divisions méiotiques secondaires sont aussi normales. Le comportement méiotique normal chez tous laisse supposer une bonne fertilité et des conditions stabilisées. Il est évident que les six espèces se comportent normalement. Ces observations montrent que les six espèces étudiées ici ont le même nombre de chromosomes diploïdes ($n=12$) et tétraploïdes ($n=24$) (Fig. 1 à 8). Ces résultats indiquent clairement que le genre *Terminalia* possède un nombre chromosomique de base $n=12$.

Les polyploïdes se trouvent chez *T. chebula* et *T. bellerica*. Ces espèces tétraploïdes présentent des bivalents fermés car il existe des chiasma terminaux et interstitiaux à la diakinèse; ils ne présentent pas d'irrégularités méiotiques. Ces caractéristiques indiquent un bon appariement. Ainsi, l'allopolypléidie peut avoir joué un rôle dominant dans la spéciation. Pourtant le rôle des chromosomes se restructurant au cours de leur évolution ne peut pas être écarté. De plus, les six espèces se ressemblent cytologiquement pour ce qui concerne les caractéristiques morphologiques générales du caryotype. Elles diffèrent cependant en ce qui concerne la longueur absolue des chromosomes, la position et la longueur relative des bras des centromères (Munirahappa et Jayaramaiah, 1985). Les différentes espèces semblent être nées de l'hybridation et du doublement des chromosomes, à partir d'un ancêtre inconnu. Elles semblent être d'origine monophylétique. Leur présence sous différents climats indique leur potentialité d'adaptation écologique dans différents habitats. Pourtant, un grand nombre d'espèces restent encore à être étudiées pour une évaluation cytotaxonomique du genre dans son ensemble.

REVUE SIGNALETIQUE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare, Bulgarian.

(D) Allemand, German.

(F) Français, French.

(K) Coréen, Korean.

(Pt) Portuguais, Portuguese.

(Ro) Roumain, Rumanian.

(C) Chinois, Chinese.

(E) Anglais, English.

(J) Japonais, Japanese.

(Pl) Polonais, Polish.

(R) Russe, Russian

(S) Espagnol, Spanish.

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.

The corresponding small letters are used for indicating the language of the summary.

Sériciculture générale

General Sericulture

La bachicoltura e interessante anche in Sinitra Piave.

Sericulture is interesting in left Piave area too./ La sériciculture est aussi intéressante dans la région de Piave.

ARDIZZON G., et al.

1986 Informatore Agrario (Italy), 42(4), 51-54. (I)

Annual report 1985-86.

Rapport annuel 1985-86.

An.

Rural Development Academy, Bogra, BANGLADESH. 1986 P. 61. (E)

Mid-term evaluation of cash crop development project (sugarcane, tobacco, oilseeds and sericulture): final report (Nepal).

Estimation à moyen terme d'un projet de développement des cultures fournissant un revenu monétaire (canne à sucre, tabac, plantes oléagineuses et sériciculture) : Rapport final (Népal).

An.

Agricultural Projects Service Centre, Kathmandu, NEPAL. 1987 Kathmandu, pp. 76. (E)

History of sericulture.

Histoire de la sériciculture.

CHERRY R.H.

1987 Bull. Entomol. Soc. Amer. (USA), 33(2), 83-84. (E)

Cultura da amoreira e criação do bicho-da-seda : sericultura.

Mulberry cultivation and silkworm rearing: sericulture./ Culture du mûrier et élevage des vers à soie : sériciculture.

FONSECA A.S., FONSECA T.C.

Instituto de Zootecnia, Caixa Postal 60, 13460 Nova Odessa, SP, BRAZIL.

1988 Nobel, Sao Paulo, P 246. (Pt)

A study on profitability of mulberry silkworm rearing in the years 1980-1983.

Résultats d'une enquête sur la rentabilité des élevages de vers à soie.

GRZYMALA-BUDA M.

Instytutu Krajowych Włókien Naturalnych, Poznan, POLAND.

1986 Prace Inst. Krajowych Włókien Naturalnych, 30, 175-183. (Pl,e,f,r)

Application of small-sized cable-way system to transportation work in sericulture (continuous report).

Mise en place d'un système de transport par cable léger pour la sériciculture.

HIGUCHI T.

1988 *Technical Bull. S.E.S.(Japan)*, 131, 55-64. (J)

Technology, transaction costs, and the transition to factory production in the British silk industry, 1700-1870.

Technologie, coûts de transaction, et transfert en production industrielle de l'industrie de la soie britannique de 1700 à 1870.

JONES S.R.H.

1987 *Journal of economic history (USA)*, 47(1), 71-96. (E)

Bibliography of sericultural science (1950-1983).

Bibliographie de la science séricicole (1950-1983).

LIU S.X.

1987 *Guangdong Agricultural Sciences (Guangzhou)*, special N, P. 843. (E)

Introduction to the symposium on biotechnology in animal husbandry, animal health, sericulture, and fishery.

Introduction au symposium sur les biotechnologies dans l'élevage, la pathologie animale, la sériciculture, et la pisciculture.

MORICHI T., HORIE Y., NAKAJIMA H., SHIRAHATA S.

National Inst. of Animal Industry, Kikuzaki, Ibaraki, JAPAN.

1987 *Research J. of Food and Agriculture*, 10(3), 4-7. (J)

Consommation des fruits du mûrier *Morus alba* par la poule d'eau *Gallinula chloropus*.

Moorhen *Gallinula chloropus* feeding on mulberry fruit (*Morus alba*).

OLIOSO G.

1987 *Le Bièvre*, 9(1), 89. (F)

Sericulture as a subsidiary occupation for women (in Bangladesh).

La sériciculture comme activité secondaire pour les femmes au Bangladesh.

SARKAR S.R.

Rural Development Academy, Bogra, BANGLADESH.

1986 *Rural Development Academy, Bogra*, P 24. (E)

Studies on the cocoon quality of the silkworm stock cultures of the Sericultural Experiment Station (Japan).

Etudes sur la qualité des cocons provenant des élevages de sélection du ver à soie de la Sericultural Experiment Station (Japon).

SHIBUKAWA A., EGUCHI R., SHIMAZAKI A., ICHIBA M.

Sericultural Experiment Station, Ibaraki 305, JAPAN.

1986 *Technical Bull. S.E.S. (Japan)*, 129, 1-33. (J)

The rearing techniques of mulberry silkworm on ancient agricultural book "Hu Can Shu".

Techniques séricicoles dans le livre ancien d'agriculture "Hu Can Shu".

ZHANG B.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 237. (C)

Mûrier

Mulberry

Chemical composition and nutritive value of *Morus alba* leaves.

Composition chimique et valeur nutritive des feuilles de *Morus alba*.

CASOLI C., et al.

1986 *Zootecnica e Nutrizione Animale (Italy)*, 12(1), 47-53. (I,e)

An investigation into intercropped mulberry field in Tongxiang County, Zhejiang Province.

Etude sur la culture du mûrier en plantation alternée dans le Comté de Tongxiang, Province du Zhejiang.

GONG L., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 207. (C)

Ecological studies on the mulberry leaf beetle, *Flautiauxia armata* Baly (Coleoptera : Chrysomelidae) in mulberry field.

Etude de l'écologie du scarabée parasite de la feuille de mûrier, *Flautiauxia armata* Baly (Coleoptera : Chrysomelidae) dans les mûraies.

IBA M.

1988 *Technical Bull. S.E.S.(Japan)*, 131, 9-54. (J)

In vitro micropropagation of mulberry, *Morus nigra* L.

Multiplication in vitro du mûrier *Morus nigra* L.

IVANICKA J.

Fruit Research Breeding Station, 972 01 Bojnice, CZECHOSLOVAKIA.

1987 *Scientia Horticulturae*, 32, 33-39. (E)

Effect of phosphorus applied as fertilizer to the mulberry plants.

Effet du phosphore appliqué comme engrais pour les plants de mûrier.

KITANO M., FUJIHARA H., KOHNO K.

Fac of Textile Science, Kyoto Inst. of Technology, Kyoto 606, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 1-7. (J,e)

Automatic steering of cultivating machine for mulberry field.

Conduite automatique d'une machine agricole pour les plantations de mûrier.

KOBAYASHI T., KITANI O., OKAMOTO T., OKABE T.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *J. Japanese Society of Agricultural Machinery*, 48(1), 91-94. (J)

Studies on the propagation of mulberry trees (*Morus alba*) by the hardwood cutting in relation to bathing of cuttings. 1. Water condition on the bathing and application of the method to the hardwood mulching cutting.

Etudes sur la multiplication du mûrier (*Morus alba*) par boutures ligneuses en relation avec le trempage des boutures. 1. Eau du bain et application de la méthode aux boutures ligneuses avec paillage.

NAKAMURA K., HIRANO M.

Mie-ken Agricultural Technical Center, Ureshino, JAPAN.

1986 *Bull. of the Mie Agricultural Technical Center*, 14, 71-77. (J)

Studies on the cultivation of Shimaguwa (*Morus acidosa* Griff.) in Okinawa (Ryukyu Arc.). 8. Seasonal change of reserve substance in mulberry after pruning.

Etudes sur la culture de *Morus acidosa* Griff. dans la région d'Okinawa. 8. Variations saisonnières des substances de réserve chez le mûrier après la taille.

ONO M., ICHIHASHI T.

1988 *Technical Bull. S.E.S.(Japan)*, 131, 1. (J)

Study on mix cropping corn, peanut and munggo with mulberry (Philippines).

Etude sur la culture mixte du mûrier avec maïs, arachide et manguier.

ORDONA M.C.

Central Luzon State University, PHILIPPINES.

1986 *CLSU Scientific Journal*, 5(2)/6(1), 154. (E)

The characteristics of the mulberry variety "Suwhagil".

Caractéristiques de la variété de mûrier "Suwhagil".

PARK K.J., NAM H.W.

Rural Development Administration, Suwon, SOUTH KOREA.

1986 *Research reports of the R.D.A.*, 28(2), 71-74. (K,e)

Induction of androgenesis, gynogenesis and mosaic by treatment with CO₂ gas derived from dry ice.

Induction de l'androgénèse, de la gynogénèse et de la mosaïque par traitement au gaz carbonique provenant de riz séché.

QING L.W., ABE S., SAKAGUCHI B.

Fac of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 43-48. (J,e)

Mulberry fruit as topping for cup cakes.

Le fruit du mûrier comme décoration de petits gâteaux.

VALENTINO L.C.

Central Luzon State University, PHILIPPINES.

1986 *CLSU Scientific Journal*, 5(2)/6(1), 73. (E)

Mulberry ecological environment and its distribution in Shennong mountain areas.

Environnement écologique du mûrier et distribution dans les régions montagneuses de Shennong.

WANG D.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 35-36. (C)

Measurement of contents of mulberry mineral elements with atomic absorption spectrophotometer.

Mesure du contenu en éléments minéraux chez le mûrier avec un spectrophotomètre à absorption atomique.

WU H., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 244. (C)

A preliminary observation and investigation on the induced mulberry variety of "Liyeda Sang".
Observation et étude préliminaires de la variété de mûrier induite, "Liyeda Sang".

XU Y., et al.

1987 Canye Kexue, 13(4), 250. (C)

Modulated degradation of ribulose biphosphate carboxylase in leaves on top-pruned shoots of the mulberry tree (*Morus alba* L.).

Dégradation modulée de la ribulose biphosphate carboxylase chez les feuilles des tiges de mûrier ayant subi une taille haute (*Morus alba* L.).

YAMASHITA T.

1987 J. Exper. Bot., 38, 1957.

Studies on radiation breeding in mulberry. 4. Effect of radiation on the improvement of leaf quality and disease resistance.

Études sur la sélection du mûrier par les radiations. 4. Effet des radiations sur l'amélioration de la qualité de la feuille et la résistance aux maladies.

YANG J., et al.

1987 Canye Kexue, 13(4), 195. (C)

B. mori: élevage, nutrition, pathologie

B. mori: rearing, feeding, pathology

Detection of DNV of Bombyx mori by using Oudin method.

Détection du DNV de Bombyx mori par la méthode Oudin.

CHEN C.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 39-41. (C)

A study on pathogen of Helicobasidium mompa Tonakae.

Etude sur le pathogène de Helicobasidium mompa Tonakae.

CHEN P.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 201. (C)

Transovarial transmission of two microsporidia in the silkworm, Bombyx mori, and disease occurrence in the progeny population.

Transmission transovarienne de deux microsporidies chez le ver à soie Bombyx mori et fréquence d'apparition de la maladie chez la descendance.

HAN M.S., WATANABE H.

Lab. Sericult. Science, Fac. of Agric., Univ. of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, JAPAN.

1988 *J. of Invertebrate Pathol.*, 51, 41-45. (E)

Antibacterial properties of D (-)-2, 3-diaminopropionic acid contained in digestive juice of the silkworm larvae, Bombyx mori.

Propriétés antibactériennes de l'acide D (-)-2, 3-diaminopropionique contenu dans le suc digestif des larves du ver à soie Bombyx mori.

HAYASHIYA K., SAKAGUCHI H.

Fac of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Kyoto 606, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 57-61. (J,e)

Studies on the synthesis of 3H-triacontanol (TRIA) and its effect on the dietary efficiency of silkworm larvae (Bombyx mori).

Etudes sur la synthèse du 3H-triacontanol (TRIA) et son effet sur l'efficacité alimentaire chez larves du ver à soie Bombyx mori.

HUANG Y., et al.

1987 *Zhongguo Kexue Jishu Daxue Xuebao*, 17(2), 238-244. (C)

Effect of the composition of artificial diet on the development and egg production in original strains of the silkworm.

Effet de la composition de l'aliment artificiel sur le développement et le grainage chez des souches originelles du ver à soie.

KATO S., FUJIMAKI T.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 21. (J)

An enzyme-linked immunosorbent assay to detect alkali-soluble spore surface antigens of strains of *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae).

Un dosage par immunoabsorbant avec enzyme fixée pour détecter les antigènes de surface des spores solubles à l'alkali de souches de *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae).

KAWARABATA T., HAYASAKA S.

1987 *J. Invertebrate Pathology* (USA), 50(2), 118-123. (E)

Desinfectant of silkworm eggs - sodium hypochlorite.

Désinfectant des oeufs de ver à soie (hypochlorure de sodium).

KIRICHENKO I.A., ZLOTIN A.Z., RYKHLITSKAYA A.I., SHCHERBAK V.N.

1986 *Shelkovodstvo* (USSR), 16, 34-40. (R)

Efficient amount of supplied mulberry leaves for the cocoon production during the fourth larval instar of trimolter silkworm.

Quantité de feuilles de mûrier nécessaire à la production du cocon au cours du 4ème âge du ver à soie tri-muant.

KOUSAKA T., SUDA Y., TAKABAYASHI K., KURIBAYASHI S.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 15. (J)

Amount of mulberry leaves ingestion and digestion by the first and the second instar larva of trimolter silkworm.

Quantité de feuilles de mûrier ingérée et digérée par la larve du 1er et du 2ème âge du ver à soie tri-muant.

KOUSAKA T., SUDA Y., TAKABAYASHI K., KURIBAYASHI S.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 9. (J)

The effect of centralized box rearing on silkworm performance.

Effet de l'élevage centralisé en boîtes sur les performances du ver à soie.

MADAMINOV K.M.

1986 *Nauch. trudy - Tashkentskij Sel'skokhozyajstvennyj Inst.* (USSR), 122, 65-71. (R)

Utilization efficiency of an artificial diet on the silkworms fed twice during their larval stages.

Utilisation efficace d'un aliment artificiel chez des vers à soie nourris deux fois par jour au cours de leur période larvaire.

MATSUBARA F., et al.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 83-84. (J)

Method for the measuring of digestibility of the silkworm by the indication of magnetite sand added in artificial diet.

Méthode de calcul de la digestibilité chez le ver à soie par indication avec de la poudre de magnétite ajoutée à l'aliment artificiel.

MATSUURA Y., MATSUDA M.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *Acta Sericologica*, 138, 25-31. (J)

Production of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* by three different methods and its relative toxicity to *Bombyx mori*.

Production de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* par trois méthodes différentes et toxicité relative envers *Bombyx mori*.

MUMMIGATTI S.E., RAGHUNATHAN A.N.

1988 *J. Invert. Pathol.*, 51, 115.

Effect of some newly selected mulberry varieties and hybrids on productivity from feeding silkworm (*Bombyx mori* L.). 2. Reproductive characteristics of the moths.

Effet de nouveaux hybrides et variétés de mûrier sélectionnés sur la productivité pour l'alimentation de *Bombyx mori* L. 2. Caractères de reproduction des papillons.

NACHEVA Y., PETKOV N., PENKOV I.

Experimental Station of Sericulture, Vratza, BULGARIA.

1988 *Animal Science*, 25(1), 87-90. (Bg,e)

Effects of incubation temperature of pupa for egg production on the egg laying reared on an artificial diet.

Effets de la température d'incubation de la chrysalide destinée à la reproduction sur les pontes élevées avec un aliment artificiel.

NOJIRI K., NIINO T., AOKI H., HIRATA Y.

1986 *Acta Sericologica*, 138, 33-41. (J)

Relationship between fertilization or harvesting method and dietary efficiency of mulberry leaves.

Relation entre la fertilisation ou la méthode de récolte et l'efficacité alimentaire des feuilles de mûrier.

ONO M., SHIOKAWA H., TAKABAYASHI K.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *Acta Sericologica*, 138, 1-9. (J)

Effect of some newly selected mulberry varieties and hybrids on productivity from feeding silkworm (*Bombyx mori* L.). 1. Biologic traits of silkworms and technologic characteristics of cocoons.

Effet de nouveaux hybrides et variétés de mûrier sélectionnés sur la productivité pour l'alimentation de *Bombyx mori* L. 1. Caractères biologiques des vers à soie et caractères technologiques des cocons.

PENKOV I., NACHEVA Y., PETKOV N.

Experimental Station of Sericulture, Vratza, BULGARIA.

1988 *Animal Science*, 25(1), 81-86. (Bg,e)

Preliminary study on *Aerocercops brongniardella* Fabricius.

Etude préliminaire sur *Aerocercops brongniardella* Fabricius.

SHI C., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 51. (C)

Isolation of protoplasts from several entomopathogenic fungi.

Isolement de protoplastes à partir de plusieurs champignons entomopathogènes.

SHIMIZU S., KURISU K.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 81-82. (J)

Effect of rearing conditions on the development and egg production in the original strain of the silkworm, *Bombyx mori*, reared on an artificial diet.

Effet des conditions d'élevage sur le développement et le grainage chez la souche originelle du ver à soie *Bombyx mori* élevée sur aliment artificiel.

SHINKURA K.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 43. (J)

Kenchu - a silkworm flacherie in Karnataka.

Kenchu, une forme de la flacherie du ver à soie au Karnataka.

SHYAMALA M.B., et al.

University of Agricultural Sciences, Hebbal, Bangalore 560024, INDIA.

1987 *UAS Technical Series*, No. 49, P 146. (E)

Population density and development of antibiotic resistance of *Streptococcus faecalis* and the related in sericultural environments.

Densité de population et développement de la résistance antibiotique chez *Streptococcus faecalis* et espèces proches en milieu séricicole.

UTSUMI S., AZUMAI Y.

Kyoto Inst. of Technology, Kyoto 606, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 8-16. (J,e)

Discussion on some properties of denonucleosis virus of *Bombyx mori* by means of epidemiology.

Discussion sur quelques propriétés du virus de la denonucléose de *Bombyx mori* au moyen de l'épidémiologie.

WANG Y., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 25-29. (C,e)

Studies on resistance of *Bombyx mori* larvae infected with CPV. 4) Its relationship to treatment of physical-chemical factors.

Etudes sur la résistance des larves de *Bombyx mori* infectées par le virus de la polyédrose cytoplasmique. 4) Relation avec le traitement par facteurs physico-chimiques.

WU Y., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 230. (C)

Studies on the time of last and first feeding of silkworm, *Bombyx mori*. 2) Relationship with the development and metabolism.

Etudes sur le moment du premier et du dernier repas chez le ver à soie *Bombyx mori*. 2) Relation avec le développement et le métabolisme.

ZHANG G., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 12-16. (C,e)

Studies on the occurrence and control of *Episomus kwanhsiensis* Heller.

Etudes sur l'apparition et la lutte contre *Episomus kwanhsiensis* Heller.

ZHOU W.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 6-11. (C)

Testing of reduced consumption rate of mulberry tree leaves and reduced rearing area for silkworm.

Essai de réduction de la consommation en feuilles de mûrier et de la surface d'élevage pour les vers à soie.

ZHURAVEL O.M.

1986 *Shelkovodstvo (USSR)*, 16, 28-30. (R)

Séricigènes non-mûrier: élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Induction of gamma-glutamyltranspeptidase and glutathione by 20-hydroxyecdysone in *Philosamia cynthia ricini*.

Induction de gamma-glutamyltranspeptidase et de glutathion par la 20-hydroxyecdysone chez *Philosamia cynthia ricini*.

LIN H., CHEN D., YIN M., ZHU X.

1986 *Kunchongxue Yanjiu Jikan*, 6, 77-86. (C)

Kinetic properties of a sex pheromone-degrading enzyme: the sensillar esterase of *Antheraea polyphemus*.

Propriétés cinétiques d'une enzyme dégradant la phéromone sexuelle : l'estérase du sensille de *Antheraea polyphemus*.

VOGT R.G., RIDDIFORD L.M., PRESTWICH G.D.

1985 *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 82(24), 8827-8831. (E)

Effect of microsporidia on activities of two enzymes and haemolymph proteins in eri-silkworm, *Philosamia cynthia ricini* D.

Effet des microsporidies sur l'activité de deux enzymes et les protéines de l'hémolymph chez le ver à soie eri *Philosamia cynthia ricini* D.

XIE W.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 44-46. (C,e)

Pathogenicity of non-occluded viruses on oak silkworm.

Pathogénicité de virus non occlus envers le ver à soie du chêne.

YOU X., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 234. (C,e)

A study on indoor breeding of young spring tussah silkworm in plastic bag.

Etude sur l'élevage en intérieur de jeunes vers à soie tussah au printemps sur sacs en plastique.

ZHANG X., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 30-34. (C)

Some aspects of nucleic acid metabolism of *Philosamia cynthia ricini* and effects of juvenile hormone analog.

Aspects du métabolisme des acides nucléiques chez *Philosamia cynthia ricini* et effets d'un analogue de l'hormone juvénile.

ZOU B., LIN H., WANG X., XU T.

1986 *Kunchongxue Yanjiu Jikan*, 6, 95-102. (C)

Vers à soie: génétique

Silkworms: genetics

Genetical identification of mutant characters in the silkworm stocks. 5. Yellow inhibitor gene in the European white cocoon strains.

Identification des caractères génétiques mutants chez la population de vers à soie. 5. Gène inhibiteur de la couleur jaune chez les souches européennes à cocon blanc.

FUJIMORI H., SHIMIZU K.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 53. (J)

Foundation of gene pool of densovirus (Zhenjiang strain) of *Bombyx mori*.

Le pool de gènes du virus de la denso-nucléose (souche de Zhenjiang) de *Bombyx mori*.

GAO Q., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 227. (C,e)

Maintenance of local and exotic strains of mulberry silkworm and their cross breeding to develop improved strains/races.

Conservation de souches locales et exotiques de ver à soie du mûrier et croisements de sélection pour obtenir des souches ou races améliorées.

HOSSAIN M.

Bangladesh Agricultural Univ., Mymensingh, BANGLADESH.

1987 *Proc. Workshop on Bangladesh Agric. Univ. Res. Progress*, 4-5 Oct 1986, 294-317.

Genetic engineering in silkworm.

Génie génétique chez le ver à soie.

INOUE H.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1987 *Research J. of Food and Agriculture*, 10(4), 33-38. (J)

Stability of double cross hybrid combined with current silkworm varieties for spring and early autumn under the normal rearing condition.

Stabilité d'un hybride obtenu par double croisement combiné avec des variétés courantes de ver à soie pour l'élevage de printemps et d'automne dans des conditions normales.

LI Y., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 42-43. (C)

Revision of the genetic map of the linkage group 23 in *Bombyx mori*.

Mise à jour de la carte génétique du groupe de linkage 23 chez *Bombyx mori*.

NAKAYAMA M., DOIRA H., BANNO Y.

Koran Women's Junior College, Fukuoka 816, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 53-56. (J,e).

Breakage by gamma-rays of the +i-lem locus on the translocated 2-nd chromosome in the sex-limited yellow cocoon silkworm.

Coupage par rayons gamma du locus +i-lem sur le chromosome 2-nd ayant subi une translocation chez le ver à soie à cocon jaune lié au sexe.

NIINO T., EGUTI R., SHIMAZAKI A., SHIBUKAWA A.

Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki 305, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 75-76. (E)

Characters of translucent silkworm in N145 x N01 hybrid.

Caractères du ver à soie translucide chez l'hybride N145 x N01.

OHTSUKI Y., HIGASHI Y.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *Acta sericologica*, 138, 11-16. (J)

The use of modelling in silkworm breeding.

L'utilisation de modèles pour la sélection du ver à soie.

SHCHUKIN A.R., AKIMENKO L.M., BRESLAVSKIJ M.E., STOTSKIJ M.I.

1986 *In: Genetic basis of animal breeding, ch. 5.*, Kiev (USSR), P. 127. (R)

Food habit and its inheritance in silkworm stocks in relation to the use of fresh leaves of several non-mulberry plants as food.

Habitudes alimentaires et leur transmission héréditaire chez les populations de vers à soie - utilisation comme nourriture de feuilles fraîches de plantes autres que le mûrier.

TAMURA T.

1988 *Technical Bull. S.E.S.(Japan)*, 131, 79-94. (J,e)

Studies on the principles of combining double cross hybrid of the mulberry silkworm with the spring and the summer-autumn varieties.

Etudes sur les principes de combinaison des hybrides doubles du ver à soie du mûrier avec des variétés du printemps et d'été-automne.

XU W., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 217. (C,e)

Racial specificity of several quantitative characters in the silkworm stocks. 4. Interstrain difference in the susceptibility of the larvae to the fungicide "Maneb".

Spécificité raciale de plusieurs caractères quantitatifs chez le ver à soie. 4. Différence selon la souche de la sensibilité des larves envers le fongicide "Maneb".

YAMAMOTO T., FUJIMORI H.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *Technical Bull. of S.E.S.(Japan)*, 129, 35-42. (J)

Path analysis of some quantitative characters in silkworm, Bombyx mori.

Analyse de l'hérédité de quelques caractères quantitatifs chez le ver à soie Bombyx mori.

YAN X., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 21-24. (C)

A network of genetic path of some quantitative characters in the silkworm, Bombyx mori.

Un réseau de chemins génétiques pour certains caractères quantitatifs chez le ver à soie Bombyx mori.

YANG M., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 213. (C,e)

Vers à soie: physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Insect cell lines promoting the encystation of *Leptomonus* sp., a trypanosomatid flagellate pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori* L.

Lignées cellulaires d'insectes entraînant l'enkystement de *Leptomonus* sp., un flagellé trypanosomien pathogène pour le ver à soie *Bombyx mori* L.

ABE Y.

Tropical Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 79-80. (E)

The study of effect of biostimulators on silkworm biologic characteristics.

Etude de l'effet de biostimulateurs sur les caractères biologiques du ver à soie.

AKHMEDOV N.A.

1986 *Nauch. trudy - Tashkentskij Sel'skokhozyajstvennyj Inst. (USSR)*, 122, 41-45. (R)

A new strategy for the synthesis of the pheromones of *Lobesia botrana* and *Bombyx mori*.

Une nouvelle stratégie pour synthétiser les phéromones de *Lobesia botrana* et *Bombyx mori*.

ALEXAKIS A., JACHET D.

1988 *Tetrahedron Letters*, 29, 217.

Biosynthetic pathway of bombykol, the sex pheromone of the female silkworm moth.

Voie de biosynthèse du bombykol, la phéromone sexuelle du papillon femelle du ver à soie.

ANDO T., HASE T., ARIMA R., UCHIYAMA M.

1988 *Agr. Biol. Chem.*, 52, 473.

Technique for silkworm spermium storage.

Technique de conservation du sperme de ver à soie.

BEGMA L.A., BEGMA A.A., ZLOTIN A.Z., KIRICHENKO V.N.

1986 *Shelkovodstvo (USSR)*, 16, 27-28. (R)

The site-specific ribosomal insertion element type II of *Bombyx mori* (R2Bm) contains the coding sequence for a reverse transcriptase-like enzyme.

L'élément d'insertion de type II à spécificité ribosomique chez *Bombyx mori* (R2Bm) contient la séquence codant pour une enzyme de type transcriptase inverse.

BURKE W.D., CALALANG C.C., EICKBUSH T.H.

Dpt of Biol., River Campus, Univ. of Rochester, Rochester, New York 14627, USA.

1987 *Molecular and Cellular Biology*, 7(6), 2221-2230. (E)

Thyroxine induced alterations in hemolymph plasma protein content during developmental stages of female silkworms *Bombyx mori*.

Altérations induites par la thyroxine dans le contenu en protéines du plasma de l'hémolymph au cours des différents stades du développement chez les vers à soie femelles de *Bombyx mori*.

CHAUDHURI A., DAS S., MEDDA A.K.

1987 *Environ. Ecol.*, 5(2), 328-332. (E)

Thyroxine induced alterations in protein and nucleic acid contents of fat body of female silkworms during different developmental stages.

Altérations induites par la thyroxine dans le contenu en protéines et en acides nucléiques du corps adipeux chez les vers à soie femelles au cours des différents stades du développement.

CHAUDHURI A., MEDDA A.K.

1987 *Insect Sci. Its Appl.*, 8(1), 43-48. (E)

Molecular mechanisms of adaptation to hyperthermia in higher organisms. 1. Synthesis of heatshock proteins in cell cultures of different species of silkworm and in caterpillar.

Mécanismes moléculaires d'adaptation à l'hyperthermie chez les organismes évolués. 1. Synthèse des protéines de choc thermique chez des cultures cellulaires de différentes espèces de ver à soie et chez les chenilles.

EVGEN'EV M.B., et al.

1987 *Molecular Biol. (Moscow)*, 21, 410. (E)

Occurrence of retinal and hydroxyretinal in a possible photoreceptor of the silkworm brain involved in photoperiodism.

Présence de rétinine et d'hydroxyrétinine dans un photorécepteur probable du cerveau du ver à soie jouant un rôle dans le photopériodisme.

HASEGAWA K., SHIMIZU I.

1988 *Experientia*, 44, 74-76.

In vivo and in vitro photoperiodic induction of diapause using isolated brain-suboesophageal ganglion complexes of the silkworm *Bombyx mori*.

Induction photopériodique de la diapause in vivo et in vitro en utilisant des complexes cerveau-ganglion suboesophagien du ver à soie *Bombyx mori*.

HASEGAWA K., SHIMIZU I.

1988 *J. Insect Physiol.*, 33, 959.

Studies on cytochrome oxidase isoenzyme in *Morus* with the disc electrophoresis.

Etudes sur l'isoenzyme de la cytochrome-oxidase chez *Morus* par électrophorèse en disques.

HE D., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 1-5. (C)

Delaying effect on eclosion by preservation of silkworm pupae at low temperature or low temperature after chilling.

Effet de retard sur l'émergence par la conservation de chrysalides de ver à soie à basse température ou à basse température après réfrigération.

HIOKI Y., NAGAIKE Y.

S.E.S., Yatabe, Ibaraki, JAPAN.

1986 *Acta Sericologica*, 138, 17-24. (J)

GTP induces knotting catenation, and relaxation of DNA by stoichiometric amounts of DNA topoisomerase II from *Bombyx mori* and HeLa cells.

Le GTP induit le nouage et la relaxation de l'ADN par des quantités stœchiométriques d'ADN topoisomérase II provenant de *Bombyx mori* et de cellules HeLa.

HIROSE S., TABUCHI H., YOSHINAGA K.

1988 *J. Biol. Chem.*, 263, 3805. (E)

Coupled transcription-translation of silkworm cytoplasmic polyhedrosis virus injected into oocytes of the frog, *Xenopus laevis*.

Transcription-traduction couplée du virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie injecté dans les ovocytes de la grenouille *Xenopus laevis*.

IKEGAMI S., et al.

1988 *J. Biochem.*, 103, 19.

Cloning of mRNA sequence coding for sex-specific storage protein of *Bombyx mori*.

Clonage de la séquence d'ARNm codant pour la protéine de stockage liée au sexe de *Bombyx mori*.

IZUMI S., et al.

Dpt of Biology, Tokyo Metropolitan Univ., 2-1-1 Fukazawa, Setagaya-ku, Tokyo 158, JAPAN.

1988 *Biochim. Biophys. Acta*, 949, 181-188. (E)

Identification and properties of lipophorin of the silkworm *Bombyx mori*.

Identification et propriétés de la lipophorine du ver à soie *Bombyx mori*.

MIURA K., SHIMIZU I.

1988 *Comp. Biochem., Physiol.*, 89, 95.

Structures and expression of mRNAs coding for major plasma proteins.

Structure et expression d'ARN messagers codant pour les protéines majeures du plasma.

SAKAI N., et al.

Dpt of Biology, Tokyo Metropolitan Univ., 2-1-1 Fukazawa, Setagaya-ku, Tokyo 158, JAPAN.

1988 *Biochem. Biophys. Acta*, 949, 224-232. (E)

Structure-activity relationship of lepidopteran, a self defence peptide of *Bombyx mori*.

Relation entre la structure et l'activité du lépidoptéran, un peptide d'auto-défense de *Bombyx mori*.

SHIBA T., TESHIMA T., NAKAI T., KITAZAWA M.

1988 *Tetrahedron*, 44, 787.

Expression of the E2 open reading frame of papillomaviruses BPV1 and HPV6b in silkworm by a baculovirus vector.

Expression de la phase de lecture ouverte de l'exon2 des papillomavirus BPV1 et HPV6b chez le ver à soie à l'aide d'un baculovirus comme vecteur.

TADA A., et al.

1988 *Virus Res.*, 9, 357.

Gypsy moth prothoracic gland: response to a synthetic peptide analog.

Gland prothoracique du papillon zig-zag : réponse à un analogue peptidique synthétique.

YIN C.M., YI S.X., NORDIN J.H.

1986 In: *Insect Neurochem. Neurophysiol. 2nd*, 323-326, Borkovec A.B. ed., Humana Pub.

The site-specific ribosomal DNA insertion element R1Bm belongs to a class of non-long-terminal-repeat retrotransposons.

L'élément d'insertion R1Bm spécifique de l'ADN ribosomique appartient à une classe de rétrotransposons à répétition terminale courte.

YUE X., EICKBUSH T.H.

Dpt of Biology, River Campus, Univ. of Rochester, Rochester, New York 14627, USA.

1988 *Molecular and Cellular Biology*, 8(1), 114-123.

Effect of "Kang-20", an inducer of trimolting silkworm, on silk quality.

Effet de "Kang-20", un inducteur de vers à soie trimuants, sur la qualité de la soie.

ZHUANG D., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 37-38. (C)

Vers à soie: oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Glycogen level and glycogen phosphorylase activity in the eggs of silkworm *Bombyx mori*.
Taux de glycogène et activité glycogène phosphorylase chez les oeufs du ver à soie *Bombyx mori*.
CHANDRASHEKAR P.M., BALI G.
1987 *Proc. Indian Acad. Sci., Anim. Sci.*, 96(1), 49-54. (E)

Comparative changes of ecdysteroid content in *Bombyx mori* eggs in diapausing and non-diapausing development.
Comparaison des variations du contenu en ecdystéroïdes au cours du développement chez les oeufs de *Bombyx mori* diapausants et non-diapausants.
COULON M.
Lab. Biologie cellulaire, Univ. C. Bernard, 69622 Villeurbanne, FRANCE.
1988 *Comp. Biochem. Physiol.*, 89A(3), 503-509. (E)

Regulation of gene expression in prediapausing embryos of the silkworm, *Bombyx mori*: pattern of protein synthesis.
Régulation de l'expression génétique chez les embryons en pré-diapause du ver à soie *Bombyx mori*: profil de synthèse protéique.
DOREL C., COULON M.
Lab. Biologie Cellulaire, Univ. C. Bernard, 69622 Villeurbanne, FRANCE.
1988 *Cell Differentiation*, 23, 87-92. (E)

Organization and expression of three genes from the silkworm early chorion locus.
Organisation et expression de trois gènes provenant du locus du chorion chez le papillon du ver à soie.
HIBNER B.L., et al.
1988 *Develop. Biology*, 125, 423.

A unique protease responsible for selective degradation of a yolk protein in *Bombyx mori*.
Une seule protéase est responsable de la dégradation sélective d'une protéine du vitellus chez *Bombyx mori*.
INDRASITH L.S., SASAKI T., YAMASHITA O.
Lab. Sericultural Science, Fac. of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464, JAPAN.
1988 *J. Biological Chemistry*, 263(2), 1045-1051. (E)

Changes of radio sensitivity during oocyte development in the silkworm, *Bombyx mori* L.
 Changements dans la sensibilité à la radioactivité au cours du développement de l'ovocyte chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

KIM S.E., LEE S.M., LEE Y.I.

Rural Development Administration, Suwon, SOUTH KOREA.

1986 *Korean J. of Breeding*, 18(3), 249-253. (K,e)

Striated fibrils in the cells of the 10 day old embryos of the silkworm, *Bombyx mori*.

Fibrilles striées dans les cellules d'embryons du ver à soie *Bombyx mori* âgés de 10 jours.

KOMAROV S.A.

1988 *Tsitologiya*, 30, 211. (R)

Changes in alkaline phosphatase activity during embryogenesis of *Bombyx mori*.

Changements de l'activité phosphatase alcaline au cours de l'embryogénèse de *Bombyx mori*.

MIHARA Y., SAITO A., KOGA K., SAKAGUCHI B.

Lab of Sericulture, Fac of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 62-67. (E)

Investigations on the egg laying and conditions of the artificial hatching treatment in the silkworm races, N02 and C02.

Etudes sur la ponte et les conditions d'éclosion artificielle chez les races de ver à soie N02 et C02.

NAKAJIMA H., NOJIRI K., HIRATA Y.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 1. (J)

Biological effect of oak silkworm eggs irradiated with short pulse laser.

Effet biologique de l'irradiation par brèves séquences au laser sur les oeufs de ver à soie du chêne.

SHEN X., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 242. (C)

Variability in silkworm parthenoclones.

Variabilité chez les clones parthénogénétiques du ver à soie.

STEPANOVA N.L., GUBANOV E.A.

1986 *Soviet Genetics (USA) (trans. from Genetika)*, 21(12), 1594-1598. (E,R)

Effect of high temperature exposure before the acid-treatment after short period of chilling of the eggs obtained from silkworm reared on the artificial diet.

Effet de l'exposition à des hautes températures avant traitement à l'acide et après une courte période de réfrigération des oeufs obtenus à partir de vers à soie élevés sur aliment artificiel.

WADA T.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 35. (J)

The destin of inter-familiar eupyrene sperm in the silkworm eggs.

La destinée de spermatozoïdes eupyrènes inter-familles chez les oeufs de ver à soie.

ZHANG G.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 221. (C)

A study on correlation between the activity of ALKP in egg stage and quantitative characters of F1 hybrid of *Bombyx mori*.

Etude sur la corrélation entre l'activité ALKP au stade de l'oeuf et les caractères quantitatifs de l'hybride F1 de *Bombyx mori*.

ZHONG B.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 17-20. (C,e)

Vers à soie: glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Viscosity of fibroin spinning solutions.

Viscosité des solutions de filage de la fibroïne.

BABADZHANOV K., GELLER B.E., KAMILOVA S.D.

1987 *Fibre Chemistry*, 18(3), 184-186. (E,R)

Strategies of fibroin production.

Stratégies pour la production de fibroïne.

CANDELAS G.C., et al.

1987 In: *Translation regulation of gene expression*, J. Ilan ed., Plenum Pub., 209-228

Regulation of fibroin gene expression and secretion of fibroin in the silk gland.

Régulation de l'expression du gène de la fibroïne et de la sécrétion de fibroïne dans la glande séricigène.

MIZUNO S.

1987 *Seikagaku*, 59, 1308-1320. (J)

Genetic studies on GPT activity in the posterior silk gland of silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes génétiques sur l'activité GPT dans la partie postérieure de la glande séricigène du ver à soie *Bombyx mori*.

WANG Z.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 247. (C)

Transcriptional properties of Bm X, a moderately repetitive silkworm gene that is an RNA polymerase III template.

Propriétés de transcription de Bm X, un gène modérément répétitif du ver à soie qui est un modèle pour l'ARN-polymérase III.

WILSON E.T., CONDLIFFE D.P., SPRAGUE K.

1988 *Mol. Cell Biol.*, 8, 624-631. (E)

Soie

Silk

Relationship between separating dropped end cocoons and quantity of water under reeling test.
Relation existant entre le purgeage des cocons et la quantité d'eau utilisée pour le dévidage.
AKAHANE T.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 57. (J)

NMR of silk fibroin. 8) Carbon 13 NMR analysis of the conformation and the conformational transition of Philosamia cynthia ricini silk fibroin protein on the basis of Bixon-Scheraga-Lifson theory.

NMR de la fibroïne. 8) Analyse du NMR par carbone 13
ASAKURA T., KASHIBA H., YOSHIMIZU H.

1988 *Macromolecules*, 21, 644-648. (E)

Dyeing of silk with reactive disperse dyes.

Teinture de la soie avec des colorants réactifs dispersés.
DOHMYO M., INOUE Y., SHIMIZU Y., KIMURA M.
Shiga Prefectural Junior College, Hikone 522, JAPAN.
1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 38-42. (J,e)

Reaction of free radicals in polyalanine and silk fibroin after mechanical destruction at 77 K.
Réaction des radicaux libres chez la polyalanine et la fibroïne après destruction mécanique à 77 K.
GASYMOV O.K., L'VOV K.M.

1988 *Biofizika*, 33, 46. (R)

Correlation analysis of some characters between cocoon quality and silk quality.

Analyse de corrélation entre certains caractères de la qualité du cocon et la qualité de la soie;
GE H., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 47-49. (C)

Effect of scanning angle on fabric structure data by reflected light measuring technique.

Effet de l'angle de balayage sur les données concernant la structure des tissus obtenues par la technique de mesure en lumière réfléchie.

HIROTA K., NISHIDE T., OHURA M.

1988 *Acta Sericologica*, 140, 71. (J)

Water-ethanol separation by pervaporation through silk fibroin membranes.

Séparation eau-éthanol par pervaporation à travers des membranes de fibroïne.

HIROTSU T., et al.

1988 *Sen'i Gakkaishi*, 44(2), 72-77. (E)**Value of flat silk spun by silkworm and its productive process.**

Valeur de la soie filée à plat par le ver à soie et son processus de production.

HUANG R., et al.

1987 *Canye Kexue*, 13(4), 252. (C)**Effect of chitosan treatment on physical properties of silk fabric and on color fastnesses of acid and reactive dyes.**

Effet du traitement chitosien sur les propriétés physiques des tissus de soie et sur la vitesse de teinture des colorants acides et réactifs.

KAKO T., KATAYAMA A.

Himeji Junior College, Himeji 670, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 31-37. (J,e)**Studies on natural silks of insects.**

Etudes sur les soies naturelles produites par les insectes.

MAZZONE H.M., DOUGLAS S.M.

1986 *Proc. meeting Electron Microscopy Society of America*, 44, 802-803. (E)**Acid dyeing of silk in the presence of sodium n-alkylsulfates.**

Coloration acide de la soie en présence de sodium n-alkylsulfates.

MITSUISHI M., YAGI T., ISHIWATARI T.

Fac of Textile Science & Technology, Shinshu Univ, Ueda, Nagano 386, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 68-73. (J,e)**Dyeing properties of the exposed silk to the sunshine.**

Propriétés tinctoriales de la soie exposée au soleil.

NAKAJIMA T., SHIMIZU Y., SHIKATA M., KIMURA M.

Koka Women's Junior College, Ukyo-ku, Kyoto 615, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 49-52. (J,e)**Analysis of Silk I structure by X-ray and electron diffraction methods.**

Analyse de la structure de Soie I par les méthodes de diffraction électronique et aux rayons X.

OKUYAMA K., et al.

Fac of Technology, Tokyo Univ. of Agriculture & Technology, Koganei, Tokyo 184, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 23-30. (J,e)**Threads of spiders. 2.**

Soies d'araignées. 2.

OSAKI S.

1987 *Kogaku to Seibutsu*, 25(11), 750-753. (J)**Statistical control of the evenness properties of the raw silk.**

Contrôle statistique de la régularité de la soie grège.

SHIMAZAKI A., MIURA M., NISHIOKA T., MINAMISAWA K.

Fac of Textile Science & Technology, Shinshu University, Ueda 386, JAPAN.

1988 *J. Seric. Sci. Jpn.*, 57(1), 17-22. (J,e)

Relationship between rearing conditions in the period of grown larva and cocoon qualities in the silkworm strains having characteristics in size of cocoon filament.

Relation entre les conditions d'élevage pendant la période de croissance larvaire et les qualités du cocon chez les souches de vers à soie caractérisées par la taille du fil.

WAKABAYASHI M., MIZUSAWA H.

1988 *Technical Bull. S.E.S.(Japan)*, 65-78. (J)

Relationship between cocoon quality and the mounting environment.

Relation entre la qualité du cocon et l'environnement d'encabanage.

YU B., et al.

1988 *Canye Kexue*, 14(1), 50. (C)

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

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

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

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

SETOYAMA K. (1962) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. J. Seric. Sci. Jpn. Sous presse.

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

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

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

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 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 50 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to : **Dr. G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.

- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

- Key-words. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

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

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 x 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures should 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 50 free reprints are sent by the Editor.