

sericologia

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

SOMMAIRE - CONTENTS

Hydroxysteroid dehydrogenases in the ovaries of silkworms, <i>Bombyx mori</i> and <i>Antheraea mylitta</i> (Lepidoptera), a histochemical study	1
Hydroxystéroïdes deshydrogenase chez les ovaires des vers à soie <i>Bombyx mori</i> et <i>Antheraea mylitta</i> (Lepidoptères) - Etude histochimique	13
H. K. HURKADLI, M. A. HOOLI, V. B. NADKARNI.	
Effect of insulin on the polyvoltine silkworm, the pure Mysore breed of <i>Bombyx mori</i> L.	17
Effet de l'insuline sur le ver à soie polyvoltin, race Pure Mysore de <i>Bombyx mori</i> L.	29
S. B. MAGADUM, M. A. HOOLI.	
Comparative susceptibility of some breeds of silkworm <i>Bombyx mori</i> L. to <i>Aspergillus flavus</i> Link	33
Etude comparée de la sensibilité à <i>Aspergillus flavus</i> Link chez quelques souches de vers à soie	39
T.. K. NARAYANASWAMY, R. GOVINDAN.	
Gentic architecture of economic traits in some strains of mulberry silkworms <i>Bombyx mori</i> L. I. Combining ability analysis	43
Architecture génétique des caractéristiques économiques chez certaines souches de vers à soie du mûrier, <i>Bombyx mori</i> L. I. Analyse de la capacité combinatoire.	61
D.. S. TAYADE..	
Biocoenology and community structure of pest and predators in tropical tasar region, Ranchi, India	67
Biocénologie et structure de la communauté des parasites et prédateurs dans la région tropicale du Tasar de Ranchi, Inde.	87
S. L. DHAR, K. .C. MONDAL, R. N. SINGH, S. .R. BHENGRA, S. .S. SINHA, K. SENGUPTA.	
Control of <i>Dermestes cadeverinus</i> Fabricius on infested cocoons of <i>Bombyx mori</i> (L) on a large scale	93
Lutte à grande échelle contre <i>Dermestes cadeverinus</i> Fabricius infestant les cocons de <i>Bombyx mori</i> (L)	97
S. K. CHOWDHARY, N. A. MUNSHI, M. Y. GHANI, S. MATHU.	
Peroxidase isozyme banding patterns in aneuploids of mulberry	99
Equipement en isozymes de la peroxydase chez des mûriers aneuploïdes	105
M. VENKATESWARLU, B... N. SUSHEELAMMA, N. SURYANARAYANA, N. K. DWIVEDI, K. SENGUPTA	
Annual rythm of shifting of symptoms and pathogenecity within an individual mulberry dwarf diseased tree	107
Rythme annuel des symptômes et de la pathogénecité chez un mûrier atteint de nanisme	115
YE YUAN BEI, GU BAO -LIN	

Notes Brèves - Brief Notes

- Cholesterol content in the developing and adult testes of eri silkworm, *Philosamia ricini* (Hutt.)** 121
 Contenu en cholestérol des testicules du ver à soie eri *Philosamia ricini* (Hutt.) au cours du développement et chez l'adulte 125
 H. K. HURKADLI, M. A. HOOLI, V. B. NADKARNI.
- Sensitiveness of some breeds of silkworm *Bombyx mori* L. to kenchu virus disease on larval weight reduction** 127
 Sensibilité de quelques souches de vers à soie *Bombyx mori* à la maladie du virus kenchu mesurée par la réduction du poids larvaire 133
 R.N. BHASKAR, R. GOVINDAN, M. C. DEVAIAH.
- Control measure of round headed stem borer *Aeolesthes holosericea* Fabr. (Cerambycidae : Coleoptera) in sericultural zones under tropical ecosystem** 135
 Mesure de contrôle de l'insecte des tiges à tête ronde, *Aeolesthes holosericea* Fabr. (Cerambycidae : Coleoptera) dans les zones sericoles sous climat tropical. 139
 K. C. MANDAL, R. N. SINGH, S. R. BHENGRA, S. L. DHAR, S. S. SINHA, K. SENGUPTA.
- Some biochemical changes in "Tukra" affected leaves of mulberry varieties** 141
 Modifications biochimiques des feuilles de certaines variétés de mûrier atteintes de "Tukra" 145
 M. P. SHREE, V. M. SREEDHARA, N. N. UMESH KUMAR, G. BORAIAH.
- Interspecific hybridization studies in mulberry** 147
 Etude sur l'hybridation interspécifique chez le mûrier 151
 N. K. DWIVEDI, N. SRYANARAYANA, B. N. SUSHEELAMMA, A. K. SIKDAR, M. S. JOLLY.

HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASES IN THE OVARIES OF SILK WORMS, *BOMBYX MORI* AND *ANTHERAEA MYLITTA* (LEPIDOPTERA), A HISTOCHEMICAL STUDY

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

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

The ovaries of adult silkworms, *Bombyx mori* and *Antheraea mylitta* were histochemically assayed for Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH, 11 β -HSDH, G-6 PDH, Sudanophilic lipids and cholesterol. The germarium in both the species of insects contained precursors of undifferentiated germ cells, nurse cells and follicles. The rest of the ovary showed a few immature follicles and fully developed oocytes. Atretic follicles were found in the ovary of *A. mylitta*.

The presence of cholesterol positive lipids, Δ^5 3 β -HSDH, 17 β -HSDH, 11 β -HSDH and G-6-PDH in the precursors of undifferentiated germ, nurse and follicle cells of germarium, the ooplasm of mature and fully developed oocytes and the follicle cells surrounding them, and in the different components of atretic follicles indicates that the ovaries of *B. mori* and *A. mylitta* have the ability to metabolize hydroxysteroid dehydrogenases.

Keywords :Silkworms, ovary, atretic follicles, hydroxysteroid dehydrogenases.

INTRODUCTION

Steroid hormones, similar to those found in vertebrates, are known to occur in insects. The pygidial glands of water beetle, *Dytiscus marginalis* are known to produce vertebrate type corticosteroids (Schildknecht *et al.*, 1966). The testes of insects are known to be capable of metabolising steroids and possess the necessary steroid metabolizing enzymes, Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (Δ^5 -3 β -HSDH) and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSDH) (Lehoux *et al.*, 1968; Lehoux and Sandor, 1969, 1970). The ovaries of *Schistocerca gregaria* have been shown to transform progesterone and 17 β -hydroxyprogesterone to 20-hydroxysteroids, dehydroepiandrosterone to androstenediol and also bring about the interconversions of androstenedione - testosterone, estrone - estradiol (Dube *et al.*, 1968; Dube and Lemonde, 1970). Estradiol was shown to be present in the ovary of *Bombyx mori* through biochemical estimation (Ohnishi *et al.*, 1985). These biochemical studies suggest the presence of steroid converting enzymes, i.e. Δ^5 -3 β -HSDH in the ovaries of insects, and there is a need to identify the cells of the ovary that are involved in steroidogenesis. Therefore, in the present work, we have attempted to identify the steroidogenic cells in the ovary of two adult silkworms, *Bombyx mori* and *Antheraea mylitta* by histochemical demonstrations of a) steroid precursors, i.e. sudanophilic lipids and cholesterol and b) some enzymes involved in steroidogenesis, such as Δ^5 -3 β -HSDH, 11 β -HSDH and G-6-PDH.

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

Fig. 1. Cross section of germarium of the ovary of *Bombyx mori* showing undifferentiated germ, nurse and follicle cells (arrows) and matrix (M).

Fig. 1. Coupe transversale du germarium de l'ovaire de *Bombyx mori* montrant les cellules germinales nourricières et folliculaires indifférenciées (flèches) et la matrice (M).

Fig. 2. Cross section of part of a follicle of *B. mori* showing follicle cells (Fc), chorion (Ch) and ooplasm (Oo).

Fig. 2. Coupe transversale d'une partie d'un follicule de *B. mori* montrant les cellules folliculaires (Fc), le chorion et l'ovoplasme (Oo).

Fig. 3. Section of atretic follicle (AF) of *Antheraea mylitta* showing degenerating nurse cells (Nc) and oocyte (Oo).

Fig. 3. Coupe de follicule atrétique (AF) de *Antheraea mylitta* montrant des cellules nourricières dégénérées (Nc) et des ovocytes (Oo).

Fig. 4. Δ^5 -3 β -HSDH activity in germarium of *B. mori* (DHA is used as a substrate).

Fig. 4. Activité D5-3 β -HSDH dans le germarium de *B. mori* (DHA est utilisé comme substrat).

Fig. 5. Δ^5 -3 β -HSDH activity in the ovarian follicle of *B. mori* (DHA is used as a substrate). Note the absence of activity in the nuclei of follicle cells.

Fig. 5. Activité D5-3 β -HSDH dans le follicule ovarien de *B. mori* (DHA est utilisé comme substrat) Remarquer l'absence d'activité dans les noyaux des cellules folliculaires.

Fig. 6. Activité Δ^5 -3 β -HSDH activity (arrows) in atretic follicle of *A. mylitta*. Note the activity in the follicle cells (Fc), nurse cells (Nc) and Ooplasm (Oo).

Fig. 6 Activité D5-3 β -HSDH (flèche) dans les follicules atrétiques de *A. mylitta*. Remarquer l'activité dans les cellules folliculaires (Fc), nourricières (Nc) et l'ovoplasme (Oo).

The scale line on the microphotographs indicate 50 μ m.

L'échelle des microphotographies indique 50 μ m.

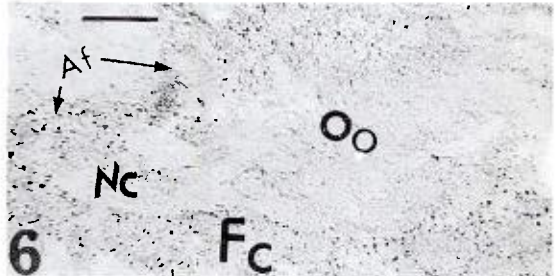
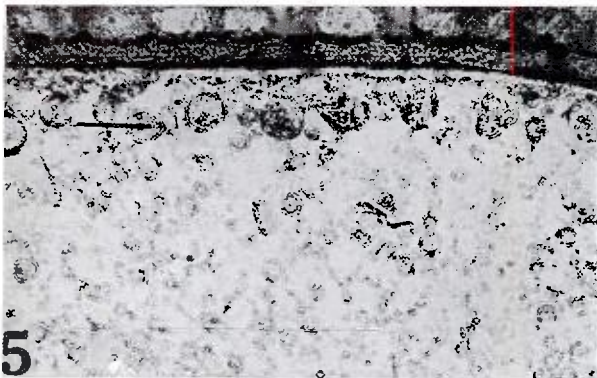
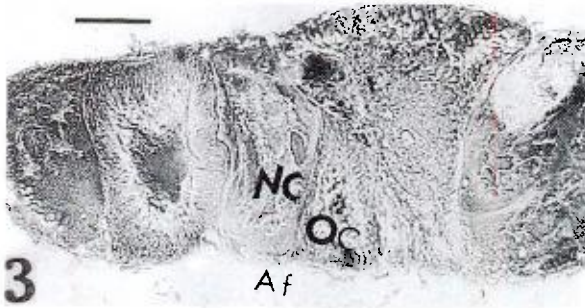
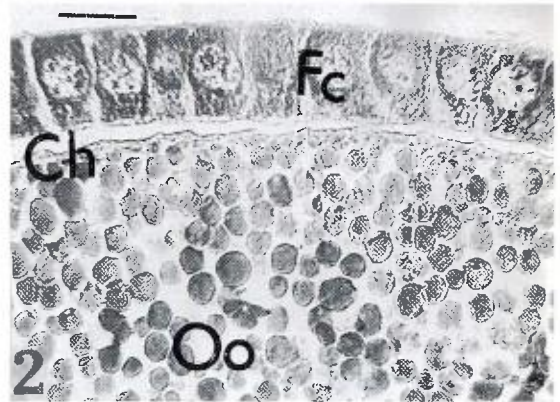


Fig. 7. 17 β -HSDH activity in germarium and the follicle of *B. mori* (17 β -estradiol is used as a substrate).

Fig. 7. Activité 17 β -HSDH dans le germarium et le follicule de B. mori (la 17 β -estradiol est utilisée comme substrat).

Fig. 8. 11 β -HSDH activity in germarium and the follicle of *B. mori* (11 β -hydroxyandrostenedione is used as a substrate)

Fig. 8. Activité 11 β -HSDH dans le germarium et le follicule de B. mori (la 11 β -hydroxyandrostenedione est utilisée comme substrat).

Fig. 9. G-6-PDH activity in germarium of *B. mori*

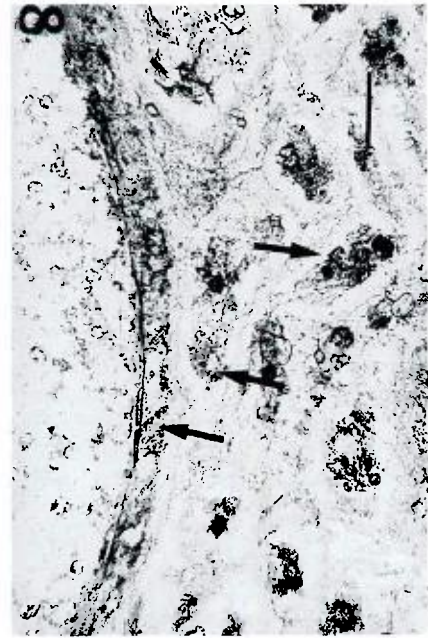
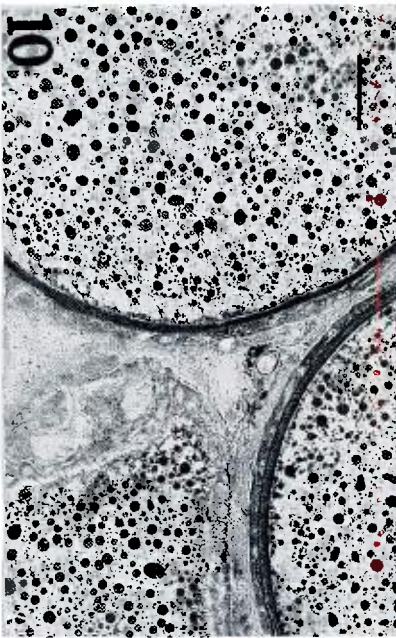
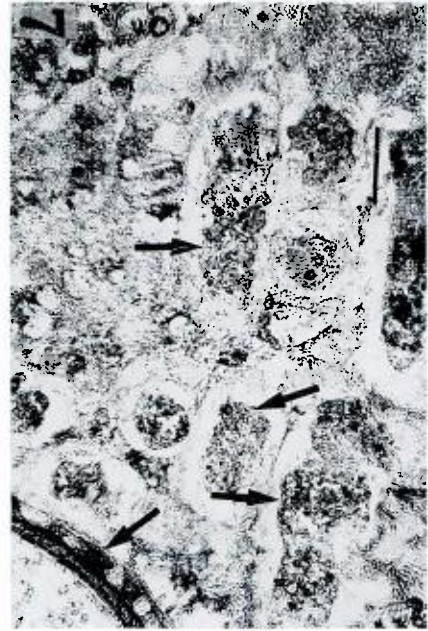
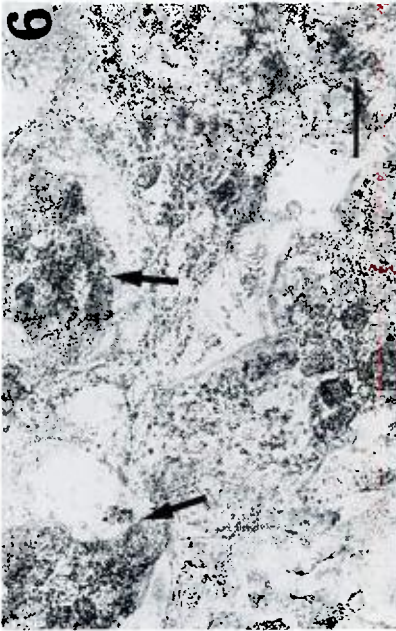
Fig. 9. Activité G-6-PDH dans le germarium de B. mori.

Fig. 10. Sudanophilic lipid droplets in the ovarian follicles of *A. mylitta*

Fig. 10. Goutelettes de lipide Soudanophiles dans les follicules ovariens de A. mylitta.

The scale line on the microphotographs indicates 50 μ m.

L'échelle des microphotographies indique 50 μ m



MATERIALS AND METHODS

The adult *Bombyx mori* (Pure Mysore), and *Antheraea mylitta*, were used in the present investigation. For histological studies the animals were killed and the ovaries were removed and fixed in Bouin's fluid for 20 to 25 hours. The tissues were embedded in paraffin wax and 5 μ sections were cut and stained with haematoxylin and eosin.

For histochemical studies, the adults were decapitated, the ovaries were removed and frozen over dry ice vapour at -50°C and sectioned in a cryostat at -20°C . The histochemical methods employed are similar to those employed for the steroid hormone producing tissues of vertebrates. For the histochemical demonstration of $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$, $17\beta\text{-HSDH}$ and $11\beta\text{-HSDH}$ activity the frozen sections were incubated in the media containing different substrates (Table I), prepared according to the procedure described earlier (Baillie *et al.*, 1966; Saidapur and Nadkarni, 1972). For the localization of G-6-PDH and NADH-diaphorase activity, the frozen sections were incubated for about 15 minutes at 37°C in the medium prepared according to the methods described by Bara (1965 a,b). After incubation the sections were washed in distilled water, fixed in 10% neutral formalin for about 30 minutes and mounted in glycerol jelly. For the demonstration of lipids, a few frozen sections were treated with Sudan Black B (Pearse, 1972). Cholesterol was detected following the procedure of Schultz (Pearse, 1972). Paralleled sections, incubated in the media lacking the respective substrates served as controls. A few sections were also incubated in a medium containing DHA and isoxozol, an inhibitor of $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$ activity, as a specific control for $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$ activity.

RESULTS AND DISCUSSION

The ovaries in the adult *B. mori* and *A. mylitta* are paired structures lying one on either side of the digestive tract in the abdomen. The ovaries are polytrophic meristotic type. Each ovary consists of four ovarioles. The anterior tips of the ovarioles are joined to the germarium and the posterior tips are joined to the oviduct. The germarium contains precursors of undifferentiated germ, nurse, and follicle cells embedded in the matrix (Fig.1). The ovarioles in the anterior region contain a few immature follicles and the rest of the ovariole contains fully mature oocytes. The immature follicles consist in a layer of columnar epithelial cells which envelops the oocyte; the chorion is not fully formed yet (Fig.2). The fully mature oocytes consist of chorion and ooplasm of the oocyte that contain lipid droplets. In some instances, the degenerating follicle cells are still attached to the chorion of some oocytes. Some of the follicles in *A. mylitta* undergo degeneration or atresia. The atretic follicles consist of the follicle cells surrounding the degenerating nurse cells and the oocyte with reduced cytoplasm, (Fig. 3). Atretic follicles were not observed in the ovary of *B. mori*.

The enzyme activity in the various components of the ovaries is visually graded (Table I). A moderately intense $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$ activity indicated by the deposition of blue diformazan granules, was observed in the cytoplasm of the precursors of germ, nurse and follicle cells of the germarium (Fig. 4) and in the cytoplasm of the follicle cells and the ooplasm of the oocyte of *B. mori* and *A. mylitta*. A weak activity of this enzyme was observed in the matrix. The intensity of the reaction was somewhat more in the follicle cells and the peripheral region of the ooplasm than that found in the central region of the ooplasm (Fig. 5). The activity of this enzyme was also observed in the cytoplasm of the phagocytic follicle cells, the degenerating nurse cells and the ooplasm of the oocyte in the atretic follicles of *A. mylitta* (Fig. 6). The intensity of $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$ with pregnenolone and DHA as substrates was of equal magnitude in all the tissues of the ovarian components.

$17\beta\text{-HSDH}$ activity, observed in the cytoplasm of the precursors of germ, nurse and follicle cells of the germarium (Fig. 7), in the normal and degenerating follicle cells and the ooplasm of the oocyte of both the species of insects and in the various components of the atretic follicles of *A. mylitta*, was similar to $\Delta^5-3\beta\text{-HSDH}$ activity. A weak activity of this enzyme was observed in the matrix. The intensity of the reaction obtained with testosterone and $17\beta\text{-estradiol}$ as substrates and NAD as co-enzyme was of similar magnitude in the tissue components of the germarium, oocyte and atretic follicles.

The intensity and distribution of $11\beta\text{-HSDH}$ activity (Fig. 8) in the various tissue components of the germarium and the follicles of both the species of insects and the atretic follicles of *A. mylitta*

was similar to that of Δ^5 -3 β -HSDH and 17 β -HSDH.

An intense G-6-PDH (Fig. 9) and NADH-diaphorase activity was observed in the cytoplasm of all the tissue components of the germarium, the mature and immature follicles of both the species of insects and the atretic follicles of *A. mylitta*. Similarly sudanophilic lipid droplets (Fig. 10) were found in all the tissue components of the ovary. The lipid droplets in the ooplasm were larger in size. The lipid droplets gave positive test for cholesterol.

Generally no diformazan deposition was observed in the sections incubated in the respective control media. Sometimes a faint colouration was observed, which might be due to endogenous substrates. The sections incubated in the medium containing DHA/pregnenolone and isoxazol did not give any reaction.

It is known that cholesterol is the basic material required for the synthesis of steroid hormones in the steroidogenic organs of vertebrates. Though insects are unable to synthesize cholesterol from acetate, it has been shown that the phytophagous insects can obtain cholesterol from their diet (Svoboda *et al.*, 1975), and *Bombyx mori* can convert plant sterols to cholesterol (Ikekawa *et al.*, 1966). Our histochemical findings have demonstrated the presence of cholesterol positive lipid droplets in the various components of the ovaries of *B. mori* and *A. mylitta*. This indicates that the ovaries of the two silkworms contain the basic material, cholesterol, needed for steroidogenesis.

Δ^5 -3 β -HSDH converts Δ^5 -3 β -hydroxysteroids to Δ^4 -3-ketosteroids and holds a key position in the early biosynthesis of all biologically active steroid hormones in the steroidogenic tissues of vertebrates (Samuels, 1951). Δ^5 -3 β -HSDH has been histochemically demonstrated in several tissues of the oyster, *Grassostrea gigas* (Mori *et al.*, 1965), in the testis of insects, *Gramphodorhina portentosa*, *Byrsotria fumigata*, *Gryllus assimilis*, *Graphosoma italicum*, *Eurydema ventralis* (Lehoux and Sandor, 1970; Trandaburu and Tusca, 1976), the ovotestis of the slug, *Vaginulus templetoni* (Gouder *et al.*, 1977). The occurrence of pregnenolone, progesterone and dehydroepiandrosterone has been reported in the tissues of the larvae of confused flour beetle, *Tribolium confusum* (Smismman *et al.*, 1964). The ovaries of *S. gregaria*, *in vivo*, have been shown to transform DHA to androstenedione there by indicating the presence of Δ^5 -3 β -HSDH (Dube and Lecomte, 1970). The present study has revealed the presence of Δ^5 -3 β -HSDH activity in the precursors of germ, nurse and follicle cells of the germarium, in the follicle cells and the oocyte ooplasm of the mature and immature follicles in the ovary of *B. mori* and *A. mylitta*. Pregnenolone and DHA were equally well utilized by these ovarian components. Our results indicate that the ovaries of *B. mori* and *A. mylitta* have the necessary enzymes that convert pregnenolone to progesterone and DHA to androstenedione. A weak activity observed in the matrix of the germarium might be due to the fact that in invertebrates there is less specialization in the enzyme profile of different cells than there is in vertebrates (Lehoux *et al.*, 1968).

17 β -HSDH catalyzes the interconversion of androstenedione-testosterone and 17 β -estradiol-estrone in the gonads of vertebrates (Baillie *et al.*, 1966). 17 β -HSDH activity has been reported in varieties of tissues in invertebrates. *In vitro* studies have shown the occurrence of 17 β -HSDH in the sperm preparations of sea urchins and oysters (Hathway, 1965), in vas deferens, mucosa, testis and androgenic gland of the lobster, *Homarus americanus* (Gilgan and Idler, 1967), in the ovotestis of the slug, *Ariolimax californicus* (Gottfried and Dorman, 1970), in the leg muscles, testis, intestine, fatty tissue and cuticle of the cricket, *Gryllus domesticus* and the cockroach, *Graphodorhina portentosa* (Lehoux and Sandor, 1969), testis and ovary of the mussel, *Mytilus edulis* (De Longcamp *et al.*, 1974), in different non gonadal tissues and the ovary of the insect *Schistocerca gregaria* (Dube and Lecomte, 1970). The ovary of *S. gregaria* brings about the interconversion of androstenedione - testosterone, estrone - estradiol (Dube and Lecomte, 1970). In all these studies the highest activity of 17 β -HSDH was found in the gonads. Estradiol was extracted, identified and estimated in the ovary of *B. mori* by radio-immunoassay and chromatography-mass spectrometry (Ohnishi *et al.*, 1985). 17 β -HSDH activity has also been histochemically demonstrated in the ovotestis of slug, *Vaginulus templetoni* (Gouder *et al.*, 1977). In the present investigation 17 β -HSDH activity has been detected in the precursors of germ, nurse and follicle cells of the germarium, follicle cells and the oocyte. It was further noted that the two substrates, testosterone and 17 β -estradiol, were equally well

Table I. Activity of hydroxysteroid dehydrogenases in the various components of the ovary of *Bombyx mori* and *Antheraea mylitta*.

Tableau I. Activité des hydroxysteroides déhydrogenases chez les différents composants de l'ovaire chez *B. mori* et *A. mylitta*.

Substrates*	Intensity of reaction 1 <i>Intensité de réaction 1</i>				
	Precursors of germ, nurse & follicle cells of germarium <i>Précurseurs des cellules germinales nourricières et des cellules folliculaires du germarium</i>	Follicle cells <i>Cellules folliculaires</i>	Peripheral region of oocyte <i>Région périphérique de l'ovocyte</i>	Ooplasm <i>Ovoplasm mylitta</i>	Atretic follicles of A. mylitta <i>Follicules atrétiques de A. mylitta</i>
Δ^5-3β - HSDH					
3- β -Hydroxyandrost-5-en-17-one (Dehydroepiandrosterone, DHA)	+++	+++	+++	++	+++
3- β -Hydroxypregn-5-en-20-one (Pregnelone)	+++	+++	+++	++	+++
17β - HSDH					
17 β - Hydroxyandrost-4-en-3-one (Testosterone)	+++	+++	+++	++	+++
3 17 β -Dihydroxyestra-1,3,5,10)-trien (17 β -estradiol)	+++	+++	+++	++	+++
11β - HSDH					
11 β - Hydroxyandrost-4-en-3, 17-dione (11 β -Hydroxyandrostenedione)	+++	++++	+++	++	+++
G-6-PDH					
Disodium salt of glucose-6-Phosphate <i>Sel disodique de glucose-6-Phosphate</i>	++++	+++++	+++++	+++	+++++

* All the chemicals are of Sigma Grade, obtained from Sigma Chemical Company, U.S.A.

* Tous les produits chimiques sont de qualité Sigma, et proviennent de la Sigma Chemical Company, U.S.A.

1. Intensity of the reaction is graded from (-) to (+++++): (-) denotes no activity and (+++++) maximal.

L'intensité de la réaction est graduée de (-) à (+++++) : (-) signifie aucune activité et (+++++) une activité maximum.

utilized by these ovarian components. These results indicate that the ovary of *B. mori* and *A. mylitta* are capable of converting testosterone to androstenedione and 17 β -estradiol to estrone and thus is capable of steroidogenesis similar to the ovary of *S. gregaria* (Dube and Lemonde, 1970) and *B. mori* (Ohnishi et al., 1985).

The presence of 11 β -HSDH in the adrenals and gonads of vertebrates indicates the biotransformation of 11 β -hydroxysteroids to 11-ketosteroids and cortisol to cortisone (Baillie et al., 1966). The androgenic gland of the blue crab, *Callinectes sapidus* is known to transform progesterone to 11-deoxycorticosterone (Tcholakian and Eiknes 1969). The pygidial gland of *D. marginalis* is known to produce corticosteroids (Schildknecht et al., 1966). The gonads of *Aplysia depilans* have been shown to produce corticosteroids (Lupo-Di Prisco and Fulgheri, 1974). Corticosterone and cortisone have been reported to occur in the haemolymph of *Gryllus domesticus* (Lehoux and Sandor, 1970). The presence of 11 β -HSDH in the precursors of germ, nurse and follicle cells of the germarium and follicle cells and oocyte of the ovaries of *B. mori* and *A. mylitta* provides evidence that the ovary of silkworms is capable of synthesizing corticosteroids like the gonads of vertebrates. G-6-PDH is involved in generating NADPH required in hydroxylations of steroids during steroidogenesis (Mc. Kerns, 1968), and it is implicated along with Δ^5 -3 β -HSDH in the enzymatic transformations related to steroidogenesis in the steroid hormone producing tissues of vertebrates (Wiest and Kidwell, 1969). The presence of G-6-PDH activity provides an additional albeit indirect, evidence of the steroid converting enzymes in the ovary of *B. mori* and *A. mylitta*.

Follicular atresia is reported to occur in the ovaries of a number of vertebrates (Saidapur, 1978), and has also been observed in the ovaries of insects, *Rhodnius prolixus* (Huebner and Anderson, 1972), *Musca domestica* (Ramamurthy, 1977), and in *Apis* (Ramamurthy, 1977). The ovarian atretic follicles of vertebrate contain steroid precursors, the lipids, and the steroid converting enzymes,

Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH and G-6-PDH and therefore, it has been therefore suggested that they have some steroidogenic potential (Saidapur, 1978). Our observations indicate that the atretic follicles of the ovary of *A. mylitta* also contain steroid precursors, the lipids, the steroid converting enzymes and G-6-PDH and they have therefore the potential to metabolize sex steroids which are thought to be "vertebrate sex steroids".

In conclusion it is suggested that the ovaries of *B. mori* and *A. mylitta* have necessary steroid converting enzymes that can convert the exogenous hydroxysteroids to ketosteroids. Further work is necessary to understand the role of the steroids found in the ovary of *B. mori* and *A. mylitta*.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the U.G.C. of India for the award of Senior Fellowship to one of us (H.K.H.), W.H.O. Geneva, for the free gift of fine chemicals.

REFERENCES

- BAILLIE A.H., FERGUSON M.M. and HART D. MCK, (1966), Developments in steroid histochemistry: Academic Press Inc. New York.
- BARA G. (1965 a) Histochemical localization of Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the ovaries of a teleost fish *Scomber scomber* (L), Gen. Comp. Endocrinol. 5, 284-296.
- BARA G., (1965 b), G-6-Phosphate dehydrogenase activity in the ovaries of *Scomber scomber* (L), experientia 21, 638-640.
- DE LONPCAMP O., LUBET P. and DROSDOWSKY M. (1974), The *in vitro* biosynthesis of mussel *Mytilus edulis*, Gen. Comp. Endocrinol., 22, 116-127.
- DUBE J., VILLENEUVE, J.L. and LEMONDE, (1968), Métabolisme *in vitro* de la progésterone -7-3H dans l'ovaire de *Schistocerca gregaria* (Orthoptera), Arch. Int. Physiol. Biochem., 76, 64-70.
- DUBE J. and LEMONDE A. (1970), Transformation des stéroïdes par la femelle adulte d'un insecte Orthoptère *Schistocerca gregaria*. Forskall, Gen. Comp. Endocrinol., 15, 158-164.
- GILGAN M.V. and IDLER D.R., (1967), The conversion of androstenedione to testosterone by

some lobster *Homarus americanus* (Milne Edwards), Gen. Comp. Endocrinol., 9, 319-324.

GOTTFRIED H. and DORFMAN R.D., (1976), Steroids in invertebrates V. The *in vitro* bio-synthesis of steroids by the male phase ovotestis of the slug, *Ariolimax californicus*. Gen. Comp. Endocrinol., 15, 120-138.

GOUDER B.Y.M., HOOLI M.A. and NADKARNI V.B., (1977), Steroid converting enzymes in the male phase ovotestis of the slug, *Vaginulus templetoni* (Humbert): A histochemical study, Zool. Jb. Anat. Bd., 98, 165-170.

HATHWAY R.R. (1965), Conversion of estradiol-17 β by sperm preparations of sea-urchins and oysters, Gen. Comp. Endocrinol., 5, 504-508.

HUEBNER E. and ANDERSON E., (1972), A cytological study of the ovary of *Rhodnius prolixus* II. Oocyte differentiation, J. morphol., 137, 385-416.

IKEKAWA N., SUZUKI M., KOBAYASHI M. and TSUDA K., (1966), Studies on the sterol of *Bombyx mori* (L). IV conversion of sterol in the silkworm, Chem. Pharm. K Bull., 14, 834-36.

LEHOUX J.G., SANDOR T., LAUTHIER A. and LUSIS O., (1968), Metabolism of exogenous progesterone by insect tissue preparations *in vitro*, Gen. Comp. Endocrinol., 11, 481-488.

LEHOUX J.G. and SANDOR T., (1969), Conversion of testosterone to Δ^4 -androstene-3, 17-dione by house cricket *Gryllus domesticus* male gonad preparations *in vitro*. Endocrinology, 84, 652-657.

LEHOUX J.G. and SANDOR T., (1970), The occurrence of steroid metabolizing enzyme systems in invertebrates, A review, Steroids, 16, 141-171.

LUPO DI PRISCO C. and FULGHERI D., (1974), Metabolic Pathways of steroid biosynthesis in *Aplysia depilans*, Gen. Comp. Endocrinol., 22, 340.

MCKERN, (1968), Mechanism of ACTH regulation of the adrenal cortex. In "Functions of adrenal cortex" Mc-Ferns E.W. (ed.) Vol. I, Appleton Century Crofts, New York, 479-537.

MORI K., TAMATE H. and IMAI T., (1965), The presence of Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the tissues of maturing oysters. Tohoku J., Agric. Res., 16, 147-157.

OHNISHI E., OGISO M., WAKABAYASHI K. and FUJIMOTO N., (1985), Identification of estradiol in the ovaries of the silkworms *B. mori*, Gen. Comp. Endocrinol., 60 (1), 35-38.

PEARSE A.G., (1972), Histochemistry : Theoretical and Applied Vol. II Third ed., Churchill livingstone.

RAMAMURTHY P.S., (1977), Unusual intertrophocytic position of follicle cells in the nurse chamber of the honey bee queen ovary *Apis mellifica*. Apidologie, 8(2), 205-216.

SAIDAPUR S.K. and NADKARNI V.B., (1972), Δ^5 -3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase and Glucose-6-phosphate dehydrogenase in testis of toad, *Bufo melanostictus* (Schneider), Ind., J. Exp. Biol., 10, 425-427.

SAIDAPUR S.K., (1978), Follicular atresia in the ovaries of nonmammalia vertebrates. Int. Rev. Cytol., 54, 225-244.

SAMUELS L.T., HELMREICH N.L., LASATER M.B., and REICH H., (1951), An enzyme in an endocrine tissue which oxidizes Δ^5 -3 β -hydroxysteroids to α , β -unsaturated ketones, Science 113, 490-491.

SCHILDKNECHT H., SIEWERDT R. and MASCHWITZ U., (1966), A vertebrate hormone as defensive substance of the water beetle, (*Dytiscus marginalis*), Angew. Chem. Intern. Ed. Engl., 5, 421-422.

SMISSMAN E.E., JENNY A.A. and BECK S.D., (1964), Sterol metabolism in larvae of confused flour beetle, *Tribolium confusum*, J. Pharm. Sci., 53, 1515-1519.

SVOBODA J.A., KAPLANIS J.N., ROBBINS W.E. and THOMPSON W.B., (1975), Recent developments in insect steroid metabolism. Ann. Rev. Entomol., 20, 205-220.

TCHOLAKIAN R.K. and EIK-NES N.B., (1969), Conversion of progesterone to 11-deoxycorticosterone by androgenic gland of blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun), Gen. Comp. Endocrinol. 12, 171-173.

TRANDABURU V. and TUSCA C., (1976), Activity of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase and some glycolytic enzymes occurring in the testis of *Graphosoma italicum* (Mull) and *Eurydema ventralis*, Rev., Roum., Med., 14(3), 203-206.

WIEST W.G. and KIDWELL W.R., (1969), The regulation of progesterone secretion by ovarian

dehydrogenase. in "The Gonads" K.W. Mc kerns (ed.). North publishing Company, Amsterdam, 295-325.

HYDROXYSTEROIDES DESHYDROGENASE CHEZ LES OVAIRES DES VERS A SOIE *BOMBYX MORI* ET *ANTHRAEA MYLITTA* (LEPIDOPTERES) - ETUDE HISTOCHIMIQUE

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

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

Les ovaires des vers à soie adultes *Bombyx mori* et *Antheraea mylitta* ont été utilisés par histochimie pour la recherche de Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH, G-6PDH, lipides soudanophiles et cholestérol. Le germarium des deux espèces d'insectes contient les précurseurs de cellules germinales indifférenciées, des cellules nourricières et des follicules. Dans le reste de l'ovaire, on observe quelques follicules immatures et des ovocytes pleinement développés. Des follicules atrophiques ont été trouvés chez l'ovaire d' *A. mylitta*.

La présence de lipides positifs au test cholestérol, la Δ^5 -3 β -HSDH, la 17 β -HSDH, la 11 β -HSDH et la G-6-PDH dans les précurseurs des cellules germinales indifférenciées, les cellules folliculaires et nourricières du germarium, l'ovoplasme des ovocytes immatures et adultes et les cellules folliculaires qui les entourent, ainsi que dans les différents composants des follicules atrophiques indique que les ovaires de *B. mori* et *A. mylitta* ont la capacité de métaboliser les hydroxystéroïdes déshydrogénases.

INTRODUCTION

Les hormones stéroïdes, identiques à celles trouvées chez les vertébrés, sont connues chez les insectes. Les glandes pygidiales du dytique *Dystiscus marginalis* sont connues pour produire des corticostéroïdes de type vertébré (Schilke et coll., 1966). Les testicules des insectes sont connus pour être capables de métaboliser les stéroïdes et ils possèdent les enzymes nécessaires à la transformation des stéroïdes, Δ^5 -3 β -Hydroxystéroïde déshydrogénase (Δ^5 -3 β -HSDH) et 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 β -HSDH) (Lehoux et coll., 1968 ; Lehoux et Sandor, 1969, 1970). Les ovaires de *Schistocerca gregaria* transforment la progesterone et la 17 β -hydroxyprogesterone en 20-hydroxystéroïdes, la deshydroepiansterone en androstenediol et assurent les interconversions androstenedione - testostérone, estrone - estradiol (Dube et coll., 1968, Dube et Lemonde, 1970). L'estradiol est présente chez l'ovaire de *Bombyx mori* comme l'indique une estimation biochimique (Ohnishi et coll., 1985). Ces études chimiques suggèrent la présence d'enzymes transformant les stéroïdes, c'est-à-dire les Δ^5 -3 β -HSDH et 17 β -HSDH dans les ovaires des insectes et il est nécessaire d'identifier les cellules de l'ovaire qui sont concernées par la production

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

des stéroïdes. En conséquence, dans cette étude, nous avons essayé d'identifier les cellules stéroïdogènes chez l'ovaire de deux vers à soie adultes, *Bombyx mori* et *Antheraea mylitta* par des détectations histochimiques :

a) des précurseurs de stéroïdes, c'est-à-dire les lipides soudanophiles et le cholestérol,

b) de quelques enzymes concernés par la production des stéroïdes, tels que Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH, 11 β -HSDH et G-6-PDH.

MATERIELS ET METHODES

Bombyx mori adulte (Pure Mysore) et *Antheraea mylitta* sont utilisés dans cette étude. Pour les études histologiques, les animaux ont été tués et les ovaires ont été enlevés et fixés dans le liquide de Bouin pendant 20 à 25 heures. Les tissus ont été enrobés dans de la paraffine et des coupes de 5 μ ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline et à l'éosine.

Pour les études histochimiques, les adultes ont été décapités, les ovaires, enlevés et congelés à la vapeur de glace carbonique à -50° C, puis sectionnés dans un cryostat à -20° C. Les méthodes histochimiques employées sont identiques à celles utilisées pour les tissus de vertébrés produisant de l'hormone stéroïde. Pour la démonstration histochimique de l'activité de Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH et 11 β -HSDH, les coupes congelées ont été incubées dans des milieux contenant différents substrats (Tableau I) préparés selon le procédé décrit auparavant (Baillie et coll., 1966 ; Saidapur et Nadkarni, 1972). Pour la localisation de l'activité G-6-PDH diaphorase et NADH diaphorase, les coupes congelées ont été incubées pendant 15 minutes environ à 37° C dans le milieu préparé selon les méthodes décrites par Bara (1965 a,b). Après incubation, les coupes ont été lavées dans de l'eau distillée et fixées dans une solution neutre de formol à 10 % pendant environ 30 minutes et montées dans le glycérol. Pour la détection des lipides, quelques coupes congelées ont été traitées avec du soudan noir B (Pearse, 1972). Le cholestérol a été détecté en suivant le procédé de Schultz (Pearse, 1972). Des coupes menées en parallèle, incubées dans le milieu sans les substrats respectifs, ont servi de témoins. Quelques coupes ont été également incubées dans un milieu contenant du DHA et del' isoxol, inhibiteur de l'activité Δ^5 -3 β -HSDH, comme témoin spécifique pour l'activité Δ^5 -3 β -HSDH.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les ovaires de *B. mori* adulte et de *A. mylitta* sont des structures paires se situant chacun sur un côté de l'appareil digestif dans l'abdomen. Les ovaires sont de type méroïstique polytrophique. Chaque ovaire est composé de quatre ovarioles. Les extrémités antérieures des ovarioles sont attachées au germarium et les extrémités postérieures sont reliées à l'oviducte. Le germarium contient les précurseurs des cellules germinales indifférenciées, les cellules folliculaires et nourricières fixées dans la matrice (Fig. 1). Les ovarioles, dans leur région antérieure, contiennent quelques follicules immatures et le reste de l'ovariole contient des ovocytes arrivés à maturité. Les follicules immatures se présentent sous l'aspect d'une seule couche de cellules épithéliales en colonne qui enveloppe l'ovocyte. Le chorion n'est pas encore complètement formé (Fig. 2). Les ovocytes adultes sont constitués du chorion et de l'ovoplasme de l'ovocyte qui contient des gouttelettes de lipides. Dans quelques cas, les cellules folliculaires dégénérées sont encore attachées au chorion de quelques ovocytes. Quelques follicules chez *A. mylitta* sont en cours de dégénérescence ou d'atrésie. Les follicules atrétiques sont constitués de cellules folliculaires entourant les cellules nourricières dégénérées et l'ovocyte avec un cytoplasme réduit (Fig. 3). On n'a pas observé de follicules atrétiques chez l'ovaire de *B. mori*.

L'activité des enzymes dans les différents composants des ovaires est estimé visuellement (Tableau I). Une activité modérée β^5 -3 β -HSDH, indiquée par le dépôt de granules bleues, a été observée dans le cytoplasme des précurseurs des cellules germinales, des cellules folliculaires, des

cellules nourricières du germarium (Fig. 4) et dans le cytoplasme des cellules folliculaires et l'ovoplasme de l'ovocyte chez *B. mori* et *A. mylitta*. On a observé une faible activité de cet enzyme dans la matrice. L'intensité de la réaction est un peu plus importante dans les cellules folliculaires et la région périphérique de l'ovoplasme que dans la région centrale de l'ovoplasme (Fig. 5). L'activité de cet enzyme a également été observée dans le cytoplasme des cellules folliculaires phagocytiques, les cellules nourricières dégénérées et l'ovoplasme de l'ovocyte dans les follicules atériques chez *A. mylitta* (Fig. 6). L'intensité de $\Delta^5-3\beta$ -HSDH avec la pregnenolone et le DHA comme substrats est d'égale importance dans tous les tissus des composants ovariens. L'activité de la 17β -HSDH observée dans le cytoplasme des précurseurs des cellules germinales, des cellules folliculaires et nourricières du germanium (Fig. 7), dans les cellules folliculaires normales et dégénérées et l'ovoplasme de l'ovocyte chez les deux espèces d'insectes et dans les différents composants des follicules atériques chez *A. mylitta*, est similaire à l'activité $\Delta^5-3\beta$ -HSDH. Une faible activité de cet enzyme a été observée dans la matrice. L'intensité de la réaction obtenue avec la testostérone et le 17β -estradiol comme substrats et NAD comme co-enzyme est de même importance dans les composants tissulaires du germarium, les follicules atériques et l'ovocyte.

L'intensité et la distribution de l'activité 11β -HSDH (Fig. 8) dans les différents composants tissulaires du germanium et les follicules des deux espèces d'insectes et les follicules atériques chez *A. mylitta* sont identiques à celles de la $\Delta^5-3\beta$ -HSDH et 17β -HSDH.

Une intense activité G-6-PDH diaphorase (Fig. 9) et NADH a été observée dans le cytoplasme de tous les composants tissulaires du germanium, les follicules matures et immatures des deux espèces d'insectes et les follicules atériques chez *A. mylitta*. De même, des gouttelettes de lipides soudanophiles (Fig. 10) ont été trouvées dans tous les composants tissulaires de l'ovaire. Les gouttelettes lipidiques de l'ovoplasme sont de taille plus grande. Les gouttelettes lipidiques donnent une réaction positive au test cholestérol.

En général, aucun dépôt de diformazan n'a été observé dans les coupes incubées dans les milieux témoins respectifs. Parfois, une faible coloration a été observée, qui pourrait être attribuée à des substrats endogènes. Les coupes incubées dans le milieu contenant DHA pregnenolone et isoxazol n'ont montré aucune réaction.

On sait que le cholestérol est le matériel de base requis pour la synthèse des hormones stéroïdes dans les organes stéroïdogènes des vertébrés. Bien que les insectes soient incapables de synthétiser le cholestérol à partir de l'acétate, il a été prouvé que les insectes phytophages peuvent obtenir du cholestérol par leur alimentation (Svoboda et coll., 1975), et *Bombyx mori* peut convertir les stérols de la plante en cholestérol (Ikekawa et coll., 1966). Nos recherches histochimiques ont mis en évidence la présence de gouttelettes de lipides positifs au test cholestérol dans les différents composants des ovaires chez *B. mori* et *A. mylitta*. Cela indique que les ovaires des deux vers à soie contiennent le matériel de base et le cholestérol nécessaires pour la genèse des stéroïdes.

La $\Delta^5-3\beta$ -HSDH transforme les hydroxystéroïdes $\Delta^5-3\beta$ en céto-stéroïdes Δ^4-3 et tient une position-clé dans la biosynthèse précoce de toutes les hormones stéroïdes actives biologiquement dans les tissus stéroïdogènes des vertébrés (Samuels, 1951). La $\Delta^5-3\beta$ -HSDH a été mise en évidence histochimiquement dans plusieurs tissus de l'huître *Grassostrea gigas* (Mori et coll., 1965) dans les testicules des insectes *Gramphadorhina portentosa*, *Byrsotria fumigata*, *Gryllus assimilis*, *Graphosoma italicum*, *Eurydema ventralis* (Lchoux et Sandor, 1970 ; Trandaburu et Tusca, 1976), les ovariolestis de la limace *Vaginulus templetoni* (Gouder et coll., 1977). La présence de pregnenolone, progesterone et déshydroepiandrosterone a été notée dans les tissus des larves du scarabée de la farine *Tribolium confusum* (Swisswan et coll., 1964). Les ovaires de *S. gregaria*, *in vivo*, transforment la DHA en androstenedione, ce qui indique la présence de $\Delta^5-3\beta$ -HSDH (Dube et Lemonde, 1970). Notre étude a révélé la présence de l'activité $\Delta^5-3\beta$ -HSDH dans les précurseurs des cellules folliculaires et nourricières du germanium, dans les cellules folliculaires et l'ovoplasme de l'ovocyte des follicules matures et immatures dans l'ovaire chez *B. mori* et *A. mylitta*. La pregnenolone et la DHA sont bien utilisées et de manière égale par ces composants ovariens. Nos résultats indiquent que les ovaires de *B. mori* et *A. mylitta* ont les enzymes nécessaires à la transformation de la pregnenolone en progesterone et la DHA en androsténédione. La faible activité observée dans la matrice du germanium pourrait être due au fait que, chez les invertébrés, il y a moins

de spécialisation dans le type des enzymes des différentes cellules qu'il n'y en a chez les vertébrés (Lehoux et coll., 1968).

La 17 β -HSDH catalyse l'interconversion androsténédione-testostérone et 17 β -estradiol-estrone dans les gonades des vertébrés (Baillie et coll., 1966). L'activité 17 β -HSDH a été observée dans des tissus variés chez les invertébrés. Les études *in vitro* ont montré la présence de 17 β -HSDH dans les préparations de sperme d'oursins et d'huîtres (Hathway, 1965), dans les vaisseaux déférents, la muqueuse, les testicules et la glande androgène du homard *Homarus americanus* (Gilgan et Idler, 1967) dans l'ovotestis de la limace *Ariolimax californicus* (Gottfried et Dorman, 1970) dans les muscles de la patte, les testicules, l'intestin, le tissu adipeux et la cuticule du grillon *Gryllus domesticus* et de la blatte *Graphodorrhinus portentosa* (Lehoux et Sandor, 1969), les testicules et l'ovaire de la moule *Mytilus edulis* (De Longcamp et coll., 1974) et dans différents tissus non gonadaux et l'ovaire chez l'insecte *Schistocerca gregaria* (Dube et Lemonde, 1970). L'ovaire de *S. gregaria* permet l'interconversion androsténédione-testostérone et estrone-estradiol (Dube et Lemonde, 1970). Dans toutes ces études, la plus importante activité 17 β -HSDH a été trouvée dans les gonades. Les estradiols ont été extraits, identifiés et dosés dans l'ovaire chez *B. mori* par dosage radio-immunologique et par spectrométrie de masse et chromatographie (Ohnishi et coll., 1985). L'activité 17 β -HSDH a été également démontrée histochimiquement chez les ovotesticules de la limace *Vaginulus templetoni* (Gander et coll., 1977). Dans nos travaux, l'activité 17 β -HSDH a été détectée dans les précurseurs des cellules germinales et des cellules folliculaires et dans l'ovocyte. Il a été noté par la suite que les deux substrats testostérone et 17 β -estradiol étaient également bien utilisés par ces composants ovariens. Ces résultats indiquent que les ovaires chez *B. mori* et *A. mylitta* sont capables de transformer la testostérone en androsténédione et le 17 β -estradiol en estrone et, donc, sont capables de stéroïdogénèse comme l'ovaire de *S. gregaria* (Dube et Lemonde, 1970) et de *B. mori* (Ohnishi et coll., 1985).

La présence de 11 β -HSDH dans les capsules surrénales et les gonades des vertébrés indique la biotransformation des 11 β -hydroxystéroïdes en 11-cétostéroïdes et du cortisol en cortisone (Baillie et coll., 1966). On sait que la glande androgène du crabe bleu *Callinectes sapidus* transforme la progestérone en 11-déoxycorticostérone (Tcholakian et Eiknes, 1969). On sait également que la glande pygidiale chez *D. marginalis* produit des corticostéroïdes (Schildknecht et coll., 1966). Les gonades d'*Aphysia depilans* produisent des corticostéroïdes (Lupo-Di Prisco et Fulgheri, 1974). Corticostérone et cortisone ont été mentionnées dans l'hémolymphe chez *Gryllus domesticus* (Lehoux et Sandor, 1970). La présence de 11 β -HSDH dans les précurseurs des cellules germinales, des cellules folliculaires et nourricières du germarium et dans les cellules folliculaires et l'ovocyte des ovaires de *B. mori* et *A. mylitta* prouve que l'ovaire des vers à soie est capable de synthétiser des corticostéroïdes comme les gonades des vertébrés. La G-6-PDH est concernée en tant que générateur de NADPH nécessaire aux hydroxylations des stéroïdes pendant la stéroïdogénèse (McKerns, 1968) et elle est impliquée avec la Δ^5 -3 β -HSDH dans les transformations enzymatiques en rapport avec la stéroïdogénèse dans les tissus produisant des hormones stéroïdes chez les vertébrés (Wiest et Kidwell, 1969). La présence de l'activité G-6-PDH prouve une fois de plus, quoique de manière indirecte, la présence d'enzymes de conversion des stéroïdes chez l'ovaire de *B. mori* et *A. mylitta*.

L'atrésie folliculaire apparaît dans les ovaires de certains vertébrés (Saidapur, 1978), et a également été observée dans les ovaires des insectes *Rhodnius prolixus* (Huebner et Anderson, 1972), *Musca domestica* (Ramamurthy, 1977) et chez *Apis* (Ramamurthy, 1977). Les follicules atrétiques ovariens des vertébrés contiennent des précurseurs de stéroïdes, les lipides et les enzymes transformant les stéroïdes Δ^5 -3 β -HSDH, 17 β -HSDH et G-6-PDH, c'est pourquoi il a été suggéré qu'ils sont des stéroïdogènes potentiels (Saidapur, 1978). Nos observations indiquent que les follicules atrétiques de l'ovaire de *A. mylitta* contiennent également des précurseurs de stéroïdes, les lipides, les enzymes transformant les stéroïdes et la G-6-PDH et qu'ils ont donc le pouvoir de transformer les stéroïdes sexuels qui sont présumés être des "stéroïdes sexuels de vertébrés".

En conclusion, nous suggérons que les ovaires de *B. mori* et *A. mylitta* ont les enzymes nécessaires à la transformation des stéroïdes qui peuvent convertir les hydroxystéroïdes exogènes en cétostéroïdes. Un travail ultérieur sera nécessaire pour comprendre le rôle des stéroïdes trouvés dans l'ovaire chez *B. mori* et *A. mylitta*.

EFFECT OF INSULIN ON THE POLYVOLTINE SILKWORM, THE PURE MYSORE BREED OF *BOMBYX MORI* L.

S.B. MAGADUM* & M.A. HOOLI** Department of Zoology, Karnatak University,
Dharwad 580 003, India.

Effect of topical application of 1, 5 and 10 I.U. insulin on the larval and post-larval parameters were studied in the Pure Mysore breed of B. mori. Each concentration was administered independantly at 36 hrs to III, IV and V instars, at 48 hrs to IV and V instars and at 72 hrs to V instar larvae. Amongst the various dosages used, the application of a single dose of 5 I.U. insulin at 72 hrs to V instar resulted in a significant increase in larval weight, silk gland weight, fecundity, male and female cocoon weights and their cocoon shell weights and in a significant decrease in larval duration, cocooning percentage and moth emergence percentage when compared with the corresponding parameters of the untreated controls. The treatment of repeated applications or a single application of remaining dosages of insulin variously affected the larval and post-larval parameters. The increase in male and female cocoon shell weight by 2 and 14 percent respectively with the treatment of a single dose of 5 I.U. insulin at 72 hrs to V instar larvae suggest that this dose may be used to increase the silk production in the pure Mysore breed of B. mori.

Keywords : Insulin, cocoon, cocoon shell, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

In recent years, attempts have been made to study the effect of vertebrate hormones on the economic parameters of the silkworm *Bombyx mori*. Recent studies have shown that the treatment of cyclic AMP and prostaglandin E to V instar larvae enhanced the pupal weight and cocoon shell weight in *B. mori* (Singh and Datta, 1980). It has been reported that topical application of prolactin, pituitary extract of prostaglandin F₂ accelerated the larval growth, increased the weight of larvae, silk gland, cocoon, cocoon shell and fecundity, shortened the larval period and advanced the moth emergence period in *B. mori* (Bhaskar *et al.*, 1982-1983, Bharathi *et al.*, 1986, Bharathi and Govindappa, 1987). It has also been reported that dietary supplementation or injection of thyroxine increased the larval growth and body weight, gonad weight, fecundity, protein and RNA content of the silk gland and silk production (Mujumdar and Medda, 1975, Medda *et al.*, 1980, Choudhury and Medda, 1985 a), protein, DNA and RNA content of the ovary, testis and fat body in nistari race of *B. mori* (Choudhury and Medda, 1985 b, 1986, 1987). Thyagaraja *et al.* (1985) and Narasimhamurthy *et al.* (1987) have also reported that dietary supplementation of thyroxine enhanced the larval weight, shortened the larval duration and increased the cocoon weight, cocoon shell weight and cocoon shell ratio in bivoltine NB7 and NB18 and Pur Mysore breed. From these studies, it is evident that the treatment with vertebrate hormones has beneficial effects on the economic parameters of the silkworm *B. mori*.

Occurences of insulin like peptides have been reported in insects and other invertebrates (Review, Kramer, 1983). It has been suggested that vertebrate insulin may stimulate growth, lipid mobilization, sugar uptake, cellular internalisation and it may also serve as a hormone of fuel storage

*Present address : Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 003

** Address for correspondence

Groups	Treatment I.U./ml Groupes Traitements	Dose I.U./ml	Number of silkworms utilized for treatment Nombres de vers utilisés pour traitement	Time of ap. after the ecdysis Temps d'ap. après ecdysis		Administration of insulin in instars Administration de l'insuline par âge		
				Ecdysis Ecdysis	Time Temps	III III	IV IV	V V
I	Insulin/Insuline	1	100 (20x5)	II	36 h	+	+	+
	Insulin/Insuline	5	100 (20x5)	II	36 h	+	+	+
	Insulin/Insuline	10	100 (20x5)	II	36 h	+	+	+
	Distilled water (control) Eau distillée (témoin)	Distilled water Eau distillée	100 (20x5)	II	36 h	+	+	+
	Insulin/Insuline	1	100 (20x5)	III	48 h	-	+	+
	Insulin/Insuline	5	100 (20x5)	III	48 h	-	+	+
II	Insulin/Insuline	10	100 (20 x 5)	III	48 h	-	+	+
	Distilled water (control) Eau distillée (témoin)	Distilled water Eau distillée	100 (20x5)	III	48 h	-	+	+
III	Insulin/Insuline	1	100 (20x5)	IV	72 h	-	-	+
	Insulin/Insuline	5	100 (20x5)	IV	72 h	-	-	+
	Insulin/Insuline	10	100 (20x5)	IV	72 h	-	-	+
	Distilled water (control) Eau distillée (témoin)	Distilled water Eau distillée	100 (2x5)	IV	72 h	-	-	+
Untreated controls/Témoins non traités			100 (20x5)	-	-	-	-	-

+ indicates treatments with insulin, (-) indicates no treatment/+ indique un traitement à l'insuline, (-) indique l'absence de traitement.

Table I Plan of treatment of insulin to larvae.

Tableau I. Traitement des larves à l'insuline.

in insects and other invertebrates (Kramer, 1983). Although occurrences of insulin like peptides have been reported, there are no reports on the effect of insulin on the economic parameters of the silkworm. In the present study, the effect of vertebrate insulin on some economic parameters of the polyvoltine breed, the Pure Mysore breed of *B. mori* has therefore been studied.

MATERIALS AND METHODS

The polyvoltine silkworms were reared in the laboratory following the improved method of silkworm rearing (Krishnaswami, 1978). The worms were maintained on fresh mulberry leaves. The third (III), fourth (IV) and fifth (V) instar larvae were grouped into different experimental groups as shown in table I. Each group consisted of 20 worms of five replications.

The synthetic insulin hormone (M/s Boots Company, Pvt. Ltd., Bombay, India) was diluted to 1 I.U., 5 I.U. and 10 I.U./ml by adding distilled water and each concentration was topically applied at 36 hrs to III, IV and V instars, at 48 hrs to IV and V instars and at 72 hrs to V instar larvae as shown on table I. Distilled water treated and untreated controls were maintained. After the treatment, precocooning and post cocooning parameters were calculated. The mean values are shown in tables II, III and IV. Each mean value is the average from 20 worms of five replications.

The experiments were designed by randomised block design (RBD) method and the data collected were subjected to one way analysis of variance test to find out the significance in the treatment groups (Snedecor and Cochran, 1967, Raghavarao, 1983). The percent values i.e. cocooning percentage, moth emergence percentage, male and female cocoon shell ratio were transformed into sine angular values for statistical analysis. The percent index was calculated for different parameters of the experimental groups over those of corresponding parameters of the untreated controls and the results are given in tables II, III and IV.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on the effect of insulin on larval duration, larval weight, male and female cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell ratio, cocooning percentage, moth emergence percentage and fecundity are summarized in tables II, III, IV. As far as the authors are aware, this is the first report on the effect of insulin on the silkworm *B. mori*.

Larval duration :

The results of the present study showed that the larval duration decreased significantly (P.05) in all the larval groups treated with insulin when compared to that of the untreated controls. Amongst the treatment groups, repeated applications of insulin, irrespective of the concentrations and the time of application, resulted in a maximum decrease (24 hrs) of larval duration.

The decreased larval duration observed in the present study may be due to the stimulatory effect of insulin on the prothoracic glands which might have enhanced the secretion of molting hormone resulting in advancement of pupation, since the treatment with insulin is reported to stimulate the growth of imaginal disc, several cell line cultures and induce molting hormone in *Drosophila melanogaster* (Kramer, 1983).

Larval weight :

A significant increase in the larval weight (P.05) was obtained in all the larval groups treated with insulin except in the group treated with repeated applications of 10 I.U. insulin at 36 hrs to III, IV and V instars when compared with that of the untreated controls. However, a maximum increase in the larval weight (31 %) was obtained with a single application of 1 I.U. insulin at 72 hrs to V instar larvae.

Although the treatment with insulin has decreased the larval duration it has increased the larval weight which might possibly be due to the growth stimulating effect of insulin as suggested by Kramer (1983). However, repeated applications of 10 I.U. insulin at 36 hrs to III, IV, V instars did not

Treatment and dose/ml <i>Traitement et dose/ml</i>	Larval duration (hrs) (total larval duration) <i>Période larvaire (hrs) (Période larvaire totale)</i>	Larval weight (g) <i>Poids larvaire (g)</i>	silk gland weight (g) <i>Pds. glandes séricigènes (g)</i>	Fecundity (n ^o) <i>Fécondité (n^o)</i>	Cocooning % <i>% coconnage</i>	Moth emergence % <i>% émergence des papillons</i>
Insulin/ <i>Insuline</i> 1 I.U.	646* (96)	1.997* (107)	0.408 (108)	333 (105)	88.2* (69.95)** (94)	84.3* (66.82)** (88)
Insulin/ <i>Insuline</i> 5 I.U.	646* (96)	2.033* (110)	0.452* (119)	306 (97)	90.6* (72.23)** (96)	80.0* (63.82)** (84)
Insulin/ <i>Insuline</i> 10 I.U.	646* (96)	1.921 (104)	0.420* (111)	358 (113)	90.5* (72.01)** (96)	85.0* (66.82)** (89)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à l'eau distillée</i>	670 (100)	1.898 (102)	0.326 (86)	336 (106)	93.0 (75.46)** (999)	92.0 (75.24)** (97)
Untreated control <i>témoin non-traité</i>	670 (100)	1.854 (100)	0.379 (100)	317 (100)	94.0 (76.77)** (100)	95.0 (78.27)** (100)
Standard error mean ± <i>Ecart type moyen ±</i>	4.713	0.036	0.014	NS	1.452	1.536
Critical difference at 5 % <i>Intervalle de confiance à 5 %</i>	13.65	0.104	0.040		4.207	4.447

Insulin on the polyphosphine silkworm

Table II / *Tableau II*Continued/*Suite page suivante*

Treatment and dose/ml <i>Traitement et dose/ml</i>	Female cocoon weight (g) <i>Poids du cocon femelle (g)</i>	Female cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque soyeuse femelle (g)</i>	Female cocoon shell ratio (%) <i>Taux coque soyeuse femelle (%)</i>	Male cocoon weight (g) <i>Poids du cocon mâle (g)</i>	Male cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque soyeuse mâle (g)</i>	Male cocoon shell ratio (%) <i>Taux coque soyeuse mâle (%)</i>
Insulin/Insuline 1 I.U.	0.999 (97)	0.111 (94)	11.10 (19.29)** (97)	0.783 (104)	0.107 (104)	13.61 (21.63)** (96)
Insulin/Insuline 5 I.U.	1.072 (104)	0.124 (105)	11.59 (19.87)** (101)	0.781 (104)	0.116 (109)	14.84 (21.63)** (104)
Insulin/Insuline 10 I.U.	1.089 (106)	0.114 (97)	11.50 (19.62)** (100)	0.682* (91)	0.084* (79)	12.28* (20.32)** (86)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à l'eau distillée</i>	1.101 (107)	0.122 (103)	11.10 (19.43)** (97)	0.768 (101)	0.111 (105)	14.47 (22.34)** (102)
Untreated control <i>Témoin non traité</i>	1.025 (100)	0.118 (100)	11.49 (19.77)** (100)	0.753 (100)	0.106 (100)	14.21 (22.54)** (100)
Standard error mean $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>	N.S.	N.S.	N.S.	0.026	0.005	0.321
Critical difference at 5 % <i>Intervalle de confiance à 5 %</i>				0.076	0.014	0.930

* Significant at 5 %/Significatif à 5 % ** Angular transformed figures/Valeurs angulaires transformées NS Non significant/Non significatif
Percentage increase/decrease over that of untreated controls in parenthesis
Pourcentage d'augmentation/diminution sur celui des témoins non traités entre parenthèses.

Table II : Effect of repeated applications of insulin at 36 hrs. to III, IV and V instar larvae of *Bombyx mori*.

Tableau II : Effet des applications répétées d'insuline à 36 hrs. sur des larves de *Bombyx mori* au IIIe, IVe et Ve âge larvaire.

Treatment & dose/ml. <i>Traitement et dose/ml.</i>	Larval duration(hrs) (total larval duration) <i>Période larvaire (hr)</i> (<i>Période larvaire totale</i>)	Larval weight (g) <i>Poids larvaire (g)</i>	Silk gland weight (g) <i>Pds. glandes séricigènes (g)</i>	Fecundity (n°) <i>Fécondité (n°)</i>	Cocooning % <i>% coconnage</i>	Moth emergence % <i>% émergence des papillons</i>
Insulin/ <i>Insuline</i> 1 I.U.	646* (96)	2.013* (108)	0.456* (120)	437* (130)	84.0* (66.52)** (89)	90.0 (73.10)** (98)
Insulin/ <i>Insuline</i> 5 I.U.	646* (96)	2.071* (112)	0.462* (122)	363* (115)	90.0 (72.97)** (96)	88.0* (69.89)** (96)
Insulin/ <i>Insuline</i> 10 I.U.	646* (96)	2.056* (111)	0.470* (124)	430* (136)	92.0 (75.43)** (98)	87.0* (69.00)** (94)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à l'eau distillée</i>	670 (100)	1.898 (102)	0.326 (86)	336 (106)	93.0 (75.46)** (99)	90.0 (75.24)** (98)
Untreated control <i>Témoin non traité</i>	670 (100)	1.854 (100)	0.379 (100)	316 (100)	94.0 (76.77)** (100)	92.0 (78.27)** (100)
Standard error mean $\pm$ 4.703 <i>Ecart type moyen $\pm$</i>		0.043	0.017	15.96	1.514	1.667
Critical difference at 5 % <i>Intervalle de confiance à 5 %</i>	13.62	0.124	0.050	46.21	4.385	4.83

Insulin on the polyvoltine silkworm

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

Treatment and dose/ml <i>Traitement et dose/ml</i>	Female cocoon weight (g) <i>Poids du cocon femelle (g)</i>	Female cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque du cocon femelle (g)</i>	Female cocoon shell ratio (%) <i>Rapport cocon/coque femelle (%)</i>	Male cocoon weight (g) <i>Poids du cocon mâle (g)</i>	Male cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque du cocon mâle (g)</i>	Male cocoon shell ratio (%) <i>Rapport cocon/coque mâle (%)</i>
Insulin/Insuline 1 I.U.	1.127 (110)	0.126 (107)	11.20 (19.51)** (97)	0.845* (112)	0.120* (113)	14.25 (21.17)** (100)
Insulin/Insuline 5 I.U.	1.120 (109)	0.124 (105)	11.05 (19.42)** (96)	0.842* (112)	0.11513.63 (108)	(21.61)** (96)
Insulin/Insuline 10 I.U.	1.193 (116)	0.131 (111)	10.93 (19.29)**	0.847* (112)	0.119* (112)	14.04 (21.97)** (97)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à l'eau distillée</i>	1.101 (107)	0.122 (103)	11.10 (19.43)** (97)	0.764 (101)	0.111 (104)	14.47 (22.34)** (101)
Untreated control <i>Témoin non traité</i>	1.025 (100)	0.118 (100)	11.50 (19.77)** (100)	0.753 (100)	0.106 (22.14)**	14.21 (100)
Standard error mean $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>	N.S.	N.S.	N.S.	0.21	0.004	N.S.
Critical difference <i>Intervalle de confiance</i>				0.059	0.010	

* Significant at 5 %/Significatif à 5 % ** Angular transformed figures/Valeurs angulaires transformées NS Non significant/Non significatif
% increase/decrease over that of untreated controls in parenthesis/% d'augmentation/diminution sur celui des témoins non traités entre parenthèses.

Table III : Effect of repeated applications of insulin at 48 hrs. to IV and V instar larvae of *B. mori*.

Tableau III : Effet des applications répétées d'insuline à 48 heures sur des larves de *B. mori*

significantly affect the weight of the larvae which might possibly be due to the over stimulatory effect of insulin on growth rate.

Silk gland weight :

Silk gland weight increased significantly (P.05) in all the larval groups treated with insulin.

Increase in the silk gland weight, due to the treatment with prolactin has been suggested to be due to the increased protein and carbohydrate content of the silk gland (Bhaskar *et al.*, 1982-1983). Increase in the silk gland weight obtained in the present study might possibly be due to the stimulatory effect of insulin on the synthetic activity of the silk gland.

Cocoon weight, cocoon shell weight and cocoon shell ratio :

A significant increase (P.05) in the female cocoon weight and its cocoon shell weight was obtained only with the treatment of a single application of 1 and 5 I.U. insulin at 72 hrs to V instar larvae when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

In males, a significant increase (P.05) in cocoon weight and its shell weight was obtained only with the treatment of a single application of 5 and 10 I.U. insulin at 72 hrs to V instar larvae when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

The results of the present study suggest that a significant increase in female and male cocoon weight and cocoon shell weight could be obtained with the treatment of a single application of 1 or 5 I.U. insulin at 72 hrs to V instar larvae of the Pure Mysore breed of *B. mori*. The results also suggest that the repeated applications of all the dosages of insulin applied at 48 hrs to IV and V instars can produce better yield of cocoon weight and cocoon shell weight than those of untreated controls. The results also suggest that the repeated applications of 1 and 10 I.U. insulin at 36 hrs to III, IV and V instar females and 10 I.U. insulin at 36 hrs to III, IV and V instar males adversely affected the cocoon weight and its shell weight. The increase in cocoon weight and cocoon shell weight might be due to the stimulatory effect of insulin on growth as suggested by Kramer (1983). It is not known why the repeated applications of 1 and 10 I.U. insulin and 10 I.U. insulin applied at 36 hrs to III, IV and V instar larvae of females and males respectively adversely affected the cocoon weight and cocoon shell weight.

The increase/decrease of cocoon shell ratio is given in tables II, III and IV.

Cocooning and moth emergence percentage :

The cocooning and moth emergence percentage in general, decreased in all the larval groups treated with insulin. The results of the present study (tables II, III and IV) show that the mortality rate of larvae and pupae in insulin treated groups ranged from 2 to 18 % and 2 to 16 % respectively.

Fecundity :

The results of the present study (tables II, III and IV) suggest that the fecundity increased significantly in all the insulin treated groups except in the groups treated at 36 hrs. However, a maximum increase in fecundity (44 %) was obtained with the application of a single dose of 1 I.U. insulin at 72 hrs. to V instar larvae.

There was no significant difference in the parameters of distilled water treated controls when compared with the corresponding parameters of the untreated controls.

From the present study, it is suggested that a single application of 1 or 5 I.U. insulin at 72 hrs. to V instar larvae or repeated applications of 10 I.U. insulin at 48 hrs. to IV and V instar larvae may be utilized to increase the silk production, although the cocooning percentage decreased in the Pure Mysore breed.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author (S.B. Magadam) is grateful to the Member Secretary, Central Silk Board, Government of India, Bangalore, for granting study leave. Our thanks are due to Dr. V.B. Nadkarni, Professor of Zoology, Karnatak University, Dharwad, for his comments on the manuscript and

Treatment & dose/ml	Larval duration (hrs.) / (V instar larval duration)	Larval weight (g)	Silk gland weight (g)	Fecundity (no)	Cocooning %	Moth emergence (%)
<i>Traitement et dose/ml</i>	<i>Période larvaire (h.) / (Période larvaire Ve âge)</i>	<i>Poids larvaire (g)</i>	<i>Pds. glandes séricigènes (g)</i>	<i>Fécondité (no)</i>	<i>% coconnage</i>	<i>% émergence des papillons</i>
Insulin/Insuline 1 I.U.	168* (89)	2.278* (131)	0.536* (160)	458* (144)	88.5* (70.27)** (91)	90.3 (70.34)** (98)
Insulin/Insuline 5 I.U.	168* (89)	2.048* (117)	0.473* (141)	439* (138)	82.8* (65.57)** (85)	88.0* (69.78)** (96)
Insulin/Insuline 10 I.U.	168* (89)	2.129* (122)	0.427* (127)	410* (129)	80.0* (63.52)** (82)	87.5* (69.34)** (95)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à à l'eau distillée</i>	188 (100)	1.797 (103)	0.341 (102)	336 (106)	95.0 (77.44)** (98)	90.0 (71.79)** (98)
Untreated control <i>Témoin non traité</i>	188 (100)	1.739 (100)	0.334 (100)	317 (100)	97.0 (80.92)** (100)	92.0 (73.99)** (100)
Standard error mean $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>	3.131	0.041	0.019	9.567	1.436	1.223
Critical difference <i>Intervalle confiance</i>	9.09	0.120	0.057	27.70	4.159	3.542

* : Significant at 5 %/Significatif à 5 %

** : Angular transformed figures/Valeurs transformées angulaires

% increase/decrease over that of untreated controls in parenthesis/ % d'augmentation/diminution sur ceux es cocons non traités entre parenthèses.

Table IV / Tableau IV

Continued / Suite page suivante

Treatment and dose/ml <i>Traitement et dose/ml</i>	Female cocoon weight (g) <i>Poids du cocon femelle (g)</i>	Female cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque du cocon femelle (g)</i>	Female cocoon shell ratio (%) <i>Rapport cocon/coque femelle(%)</i>	Male cocoon weight (g) <i>Poids du cocon mâle(g)</i>	Male cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque du cocon mâle (g)</i>	Male cocoon shell ratio (%) <i>Rapport cocon/coque mâle (%)</i>
Insulin/Insuline 1 I.U.	1.226* (113)	0.138* (111)	11.21 (19.53)** (98)	0.894 (110)	0.122 (113)	13.65 (21.64)** (102)
Insulin/Insuline 5 I.U.	1.186* (110)	0.142* (114)	11.89 (20.13)** (104)	0.990* (122)	0.130* (120)	13.09 (21.16)** (98)
Insulin/Insuline 10 I.U.	1.149 (106)	0.134 (108)	11.64 (19.91)** (102)	0.923* (114)	0.126* (117)	13.62 (21.62)** (102)
Distilled water treated control <i>Témoin traité à l'eau distillée</i>	1.131 (104)	0.123 (101)	10.87 (19.21)** (95)	0.853 (105)	0.115 (106)	13.58 (21.57)** (102)
Untreated control <i>Témoin non traité</i>	1.082 (100)	0.124 (100)	11.42 (19.73)** (100)	0.812 (100)	0.108 (21.36)**	13.31 (100)
Standard error mean $\pm$ <i>Ecart type moyen $\pm$</i>	0.032	0.005	N.S.	0.031	0.005	N.S.
Critical difference <i>Intervalle de confiance</i>	0.093	0.014		0.089	0.014	

* : Significant at 5 %/Significatif à 5 % ** : Angular transformed figures/Valeurs transformées angulaires N.S.: Non significant/Non significatif
% increase/decrease over that of untreated controls in parenthesis / Augmentation/diminution du % sur celui des cocons non traités entre parenthèses.

Table IV : Effect of a single application of insulin at 72 hrs. to V instar larvae of *B. mori*.

Tableau IV : Effet d'une application unique d'insuline à 72 hr. sur des larves de *B. mori* au Ve âge

encouragement and to Dr. R. Govindan, University of Agricultural Sciences, Dharwad, for providing facilities.

REFERENCES

- BHARATHI D., GOVINDAPPA S. (1987), Effect of prostaglandin F₂ on the growth pattern of the silkworm larvae of *Bombyx mori* L., *Sericologia*, 27, 355-358.
- BARATHI D., BHASKAR M., REDDANNA P., GOVINDAPPA S. (1986), Effect of vertebrate pituitary extract administration on the organic constituents of the silkworm larvae, *Bombyx mori* L., *Indian J. Anim. Physiol.*, 4, 9-12.
- BHASKAR M., BHARATHI D. REDDANNA P., GOVINDAPPA S. (1982-1983), Growth pattern of silkworm larvae, *Bombyx mori* L., on exposure to prolactin, *Indian J. Seric.*, 21-22, 33-35.
- CHOUDHURI A., MEDDA A.K. (1985a), Effect of thyroxine on the pattern of variation of protein, RNA and DNA contents of ovary of silkworm, *Bombyx mori* L. during metamorphosis, *Environ. and Ecol.* 419-423.
- CHOUDHURI A., MEDDA A.K. (1985 b), Growth stimulating effect of thyroxine on female and male silworms, *Bombyx mori* L., *Ind. J. Physiol. and Allied Sci.*, (in Press - Personnel communication).
- CHOUDHURI A., MEDDA A.K. (1986), Changes in protein and nucleic acid contents of male gonad of silkworm *Bombyx mori* L., at different developmental stages after thyroxine treatment, *Proc. Nat. Acad. Sci. India*, 568, 300-304.
- CHOUDHURI A. DAS S., MEDDA A.K. (1987), Thyroxine induced alterations in hemolymph, plasmaprotein content during developmental stages of female silkworm, *Bombyx mori*, *Environ and Ecol.*, 5, 328-332.
- KRAMER K.J. (1983). Vertebrate hormone in insects. In "Comprehensive insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", (Kerkut G.A., Gilbert L.I., Eds. Pergemon Press, London New York), vol. VII, p. 511-535.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing, Bulletin no. 2, CSRTI, Mysore.
- MEDDA A.K., RAY A.K., MUJUMDER A.C., DEY C.D. (1980), In thyroid research VIII, Proceeding of 6th internation thyroid congress. Ed. Stockigt J.R., Nagataki S., Australian Academy of Science, Canberra, p. 240.
- MUJUMDER A.D, MEDDA A.K. (1975), Studies on the thyroxine and vitamin B₁₂ induced changes in the lifecycle of silkworms. *Ind. J. Physiol. and Allied Sci.*, 29, 1-13.
- NARASIMHAMURTHY C.V., HURKADLI H.K., THYAGARAJA B.S. (1987), Effect of thyroxine on the growth and development of the silkworm, *Bombyx mori*, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 56, 351-352.
- RAGHAVA RAO D.(1983), Statistical techniques in agricultural and biological research, Oxford and IBH publishing Co., New Delhi.
- SINGH B.D., DATTA S. (1980), Effect of cyclic (C-AMP) and prostaglandin E. on post embryonic development of silkworm, *Bombyx mori* L., *Indian J. Entomol.*, 42, 197-201.
- SNEDECOR C.W., COCHRAN W.C. (1967), Statistical methods", Oxford and IBH publishing Co., New Delhi.
- THYAGARAJA B.S., JOLLY M.S., DATTA R.K., MURTHY C.V.N. (1985), Effect of thyroxine on silk improvement in *Bombyx mori* L., *Indian J. Sericult.*, 24, 77-82.

EFFET DE L'INSULINE SUR LE VER A SOIE POLYVOLTIN, RACE PURE MYSORE DE *BOMBYX MORI* L.

S.B. MAGADUM* & M.A. HOOLI**

Department of Zoology, Kartanaka University, Dharwad 580 003, INDE

On a étudié les effets de l'application locale d'insuline à 1,5 et 10 U.I. sur les paramètres larvaires et post-larvaires de la race Pure Mysore de B. mori. On a administré chaque concentration séparément à 36 h. aux larves des 3^e, 4^e et 5^e âges, à 48 h. aux larves des 4^e et 5^e âges et à 72 h. aux larves du 5^e âge. Parmi les différentes doses utilisées, l'application d'une seule dose d'insuline de 5 U.I. à 72 h aux larves du 5^e âge a conduit à une augmentation significative des paramètres suivants : poids larvaire, poids des glandes séricigènes, fécondité, poids des cocons mâle et femelle et de leurs coques, et a entraîné une baisse des paramètres suivants : durée larvaire, pourcentage de coconage et pourcentage d'émergence des papillons par rapport aux témoins non traités. Les traitements simples ou répétés effectués avec les autres doses d'insuline affectent de manière variable les paramètres larvaires et post-larvaires étudiés. L'augmentation du poids des coques soyeuses mâle et femelle de 2 et 14 % respectivement après administration d'une seule dose d'insuline à 5 U.I. à 72 h aux larves du 5^e âge laisse à penser que cette dose pourrait être utilisée afin d'augmenter la production de soie de la race Pure Mysore de B. mori.

INTRODUCTION

Au cours de ces dernières années, on s'est efforcé d'étudier les effets des hormones de vertébrés sur les paramètres économiques du ver à soie *Bombyx mori*. Des études récentes ont montré que l'administration d'AMP cyclique et de prostaglandine E aux larves du 5^e âge entraîne l'augmentation du poids de la chrysalide et de celui de la coque soyeuse chez *B. mori* (Singh et Datta, 1980). Il a été démontré que l'application locale de prolactine d'extrait hypophysaire ou de prostaglandine F₂, accélérât la croissance larvaire, entraînât l'augmentation du poids de la larve, des glandes séricigènes, du cocon, de la coque soyeuse et de la fécondité, réduisait la durée larvaire et avançait la date d'émergence du papillon chez *B. mori* (Baskhar et coll., 1986 ; Bharathi et Govindappa, 1987). On a également démontré que la fourniture alimentaire ou par injection de thyroxine augmentait les paramètres suivants : la croissance larvaire, le poids larvaire, le poids gonadique, la fécondité, le contenu en protéines et ARN des glandes séricigènes, la production de soie (Mujumdar et Medda, 1975 ; Medda et coll., 1980 ; Choudhury et Medda, 1985A), le contenu en protéines ADN et ARN des ovaires, des testicules et du corps adipeux chez la race nistari de *B. mori* (Choudhury et Medda, 1985b, 1986, 1987). Thyagaraja et coll. (1985) et Narasimhamurty et coll. (1987) ont également démontré que l'addition de thyroxine dans l'alimentation augmentait le poids larvaire, réduisait la période larvaire et augmentait le poids du cocon, le poids de la coque soyeuse et la richesse

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008

** Adresse pour la correspondance.

yeuse chez les bivoltins NB7 et NB18 ainsi que chez la race Pure Mysore. Ces études montrent clairement que le traitement comprenant des hormones de vertébrés a un effet positif sur les paramètres économiques du ver à soie *B. mori*. On a démontré l'existence de peptides de type insuline chez certains insectes et autres invertébrés (Review, Kramer, 1983). L'hypothèse a été avancée que l'insuline de vertébré pouvait stimuler la croissance, la mobilisation des lipides, l'absorption de sucre, l'internalisation cellulaire et qu'elle pouvait être utilisée comme hormone de stockage de combustible chez les insectes et autres invertébrés. Bien qu'on ait démontré l'existence de ces peptides de type insuline, on n'a pas étudié l'effet de l'insuline elle-même sur les paramètres économiques du ver à soie. C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier, dans le présent article, les effets de l'insuline de vertébrés sur certains des paramètres économiques de la race de *B. mori* polyvoltine Pure Mysore.

MATERIELS ET METHODES

Les vers à soie polyvoltins ont été élevés en laboratoire selon la méthode améliorée de Krishnaswami, 1978. Les vers ont été nourris de feuilles de mûrier fraîches. On a réparti les larves du 3^e (III), 4^e (IV) et 5^e (V) âge en différents groupes expérimentaux (cf tableau I), chaque groupe étant constitué de cinq réplicats de vingt vers.

On a dilué l'insuline synthétique (M/s Boots Cie. Pvt. Ltd., Bombay, Inde) jusqu'à 1 U.I., 5 U.I. et 10 U.I. en ajoutant de l'eau distillée, et on a appliqué chaque concentration localement à 36 h aux larves du III^e, IV^e et V^e âge, à 48 h aux larves du IV^e et du V^e âge et à 72 h aux larves du V^e âge (tableau I). On a gardé des témoins traités à l'eau distillée ou non traités. Après le traitement, on a mesuré les paramètres pré et post-coconnage. Les valeurs moyennes sont détaillées dans les tableaux II, III et IV. Chaque valeur moyenne est calculée sur cinq réplicats de vingt vers.

Les expériences ont été réalisées selon la méthode de l'échantillonnage au hasard, et les données réunies ont été soumises à une analyse de variance unidimensionnelle afin d'établir si des différences significatives existent entre les groupes de traitement (Snedecor et Cochran, 1967 ; Raghavarao, 1983). Les pourcentages - c'est-à-dire, le pourcentage de coconnage, d'émergence du papillon et le taux de la coque soyeuse mâle et femelle - ont subi une transformation angulaire pour les besoins de l'analyse statistique. L'indice de pourcentage a été calculé, pour les différents paramètres des groupes expérimentaux, en fonction des paramètres correspondant des témoins non traités. Les résultats sont donnés dans les tableaux II, III, IV.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données concernant l'effet de l'insuline sur la durée larvaire, le poids larvaire, le poids des cocons mâle et femelle, le pourcentage de coconnage, le pourcentage d'émergence du papillon et la fécondité sont énumérées aux tableaux II, III et IV. Autant que les auteurs aient pu en juger, il n'existait jusqu'à aujourd'hui aucune étude sur l'effet de l'insuline sur le ver à soie *Bombyx mori*.

Période larvaire :

Les résultats de cette étude montrent que la période larvaire est significativement plus courte (P.05) chez tous les groupes traités à l'insuline par rapport à celle des témoins non-traités. Pour les groupes traités, les applications répétées d'insuline, indépendamment des concentrations ou de l'heure d'application, ont entraîné une diminution maximale (24 h) de la période larvaire.

Il est possible que la diminution de la période larvaire observée lors de cette expérience soit due à l'effet stimulant de l'insuline sur les glandes prothoraciques, ce qui aurait pour effet d'augmenter la sécrétion de l'hormone de mue, et pour résultat une nymphose précoce, étant donné qu'il a été montré que le traitement à l'insuline stimulait la croissance des disques imaginaires de plusieurs cultures de lignées cellulaires et déclenchait l'hormone de mue chez *Drosophila melanogaster* (Kramer, 1983).

Poids larvaire :

On a pu obtenir une augmentation significative (P.05) du poids larvaire chez tous les groupes traités à l'insuline par rapport aux témoins, hormis le groupe traité par applications répétées d'insuline à 10 U.I. à 36 h (III^e, IV^e et V^e âge).

Bien que le traitement à l'insuline ait diminué la période larvaire, il a augmenté le poids, ce qui pourrait être dû à l'effet stimulant de l'insuline ainsi que l'a suggéré Kramer (1983). Cependant, des applications répétées d'insuline à 10 U.I. n'ont pas affecté de manière significative le poids larvaire, ce qui pourrait suggérer un effet sur-stimulant de l'insuline sur le taux de croissance.

Poids des glandes séricigènes :

Le poids des glandes séricigènes a augmenté de façon significative ($P < 0.05$) pour tous les groupes larvaires traités à l'insuline.

On a avancé l'hypothèse que l'augmentation du poids des glandes séricigènes, du fait du traitement à la prolactine, pouvait être due à l'augmentation du contenu de la glande séricigène en protéines et en hydrates de carbone (Bhaskar et coll., 1982-1983). L'augmentation du poids de la glande séricigène obtenue dans la présente étude pourrait être due à l'effet stimulant de l'insuline sur l'activité synthétique de cet organe.

Poids du cocon, poids et taux de la coque soyeuse :

On a obtenu une augmentation significative ($P < 0.05$) par rapport au témoin du poids du cocon femelle et de sa coque soyeuse par une application unique d'insuline à 1 et 5 U.I. à 72 h aux larves du V^e âge.

Chez les mâles, on a obtenu une augmentation significative par une application unique d'insuline à 5 et 10 U.I. à 72 h aux larves du V^e âge.

Les résultats de la présente étude suggèrent qu'une augmentation significative du poids des cocons mâle et femelle ainsi que de celui de leur coque soyeuse pouvait être obtenue par une application unique d'insuline à 1 ou à 5 U.I. à 72 h aux larves du V^e âge de la race Pure Mysore de *B. mori*.

Les résultats suggèrent également que les applications répétées de toutes les doses d'insuline appliquées à 48 h aux larves du IV^e et du V^e âge peuvent entraîner un meilleur résultat quant aux poids du cocon et celui de la coque que chez les témoins non traités. Il semble aussi que les applications répétées d'insuline à 1 et 10 U.I. à 36 h aux III^e, IV^e et V^e âges affectent d'une façon défavorable le poids du cocon et de la coque soyeuse. L'augmentation du poids pourrait être causée par l'effet stimulant de l'insuline ainsi que l'a suggéré Kramer (1983). On ignore pourquoi les applications répétées d'insuline à 1 et 10 U.I. et à 10 U.I. à 36 h - aux larves femelles et mâles respectivement - du III^e, IV^e et V^e âge affecte de manière défavorable le poids du cocon et celui de la coque soyeuse.

L'augmentation ou la diminution du taux de la coque soyeuse est donnée sur les tableaux II, III et IV.

Pourcentage de coconnage et d'éclosion du papillon :

En règle générale, les pourcentages de coconnage et d'éclosion du papillon ont diminué chez tous les groupes larvaires traités à l'insuline. Les résultats de cette étude montrent que les taux de mortalité de la larve et de la nymphe chez les groupes traités à l'insuline s'échelonnent respectivement entre 2 et 18 % et entre 2 et 16 %.

Fécondité :

Les résultats de notre étude (tableaux II, III et IV) suggèrent que la fécondité augmente sensiblement chez tous les groupes traités à l'insuline, hormis les groupes traités à 36 h. Cependant, on a obtenu une augmentation maximale de la fécondité (44 %) par l'application d'une dose unique d'insuline à 1 U.I. à 72 h aux larves du V^e âge.

Il n'y a pas de différence significative entre les témoins traités à l'eau distillée et les témoins non traités.

Il semble qu'une application unique d'insuline à 1 ou à 5 U.I. à 72 h aux larves du V^e âge ou des applications répétées d'insuline à 10 U.I. à 48 h aux larves du IV^e et du V^e âge peuvent être pratiquées pour augmenter la production soyeuse, bien que le pourcentage de coconnage diminue dans la race Pure Mysore.

COMPARATIVE SUSCEPTIBILITY OF SOME BREEDS OF SILKWORM *BOMBYX MORI* L. TO *ASPERGILLUS FLAVUS* LINK

T. K. NARAYANASWAMY and R. GOVINDAN

Departement of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Bangalore-560 065, India.

Two polyvoltine breeds of silkworm (Pure Mysore and Hosa Mysore) and four bivoltine breeds (NB18, NB7, NB4 D2, and Kalimpong A) were tested for their susceptibility to Aspergillus flavus Link. Contamination has been carried out by spraying the larval integument with conidial suspension in second and third instars separately. NB 18 and Kalimpong A were most susceptible followed by NB4 D2 and NB 7. Pure Mysore was least susceptible. Second instar was more susceptible than third instar.

Keywords : Silkworm, *Bombyx mori*, Breed susceptibility, *Aspergillus flavus*.

INTRODUCTION

The presence of immunity in silkworm against fungi has been demonstrated to be due to its cuticular lipids (Koidsumi, 1957). Aspergillosis caused by several species of *Aspergillus* is one of the important groups of infectious diseases of silkworm, *Bombyx mori* L. in early instars. Kawakami (1975) reported the differential susceptibility of three Japanese (J124, J131, and J134) and two Chinese (C124 and C135) breeds of *Bombyx mori* to *Aspergillus flavus* Link. Japanese breeds were relatively more susceptible to infection. The loss accrued due to various diseases in silkworm was higher in bivoltine breeds than in polyvoltines in India (Anonymous, 1975). Chinnaswamy and Devaiah (1984) studied the susceptibility of some silkworm breeds to *A. tamarii* Kita. Perusal of available literature revealed no information on the relative susceptibility of Indian silkworm breeds of Karnataka, the major silk producing state in India, to the pathogen and the results are reported in this article.

MATERIAL AND METHODS

Two polyvoltine breeds viz., Pure Mysore and Hosa Mysore and four bivoltine breeds NB18, NB4, D2, NB7 and Kalimpong A (KA) were screened for their susceptibility to *A. flavus*. Conidia were suspended in distilled water and their number per ml. was calculated by using haemocytometer. Contamination of initial second and third instar worms of the above breeds was done separately by spraying the spore suspension on to the integument with the help of an atomizer. A quantity of 4 ml. of conidial suspension (26, 80,000 conidia/ml) was used to spray 100 worms contained in each replication. The worms were reared as per the recommended package of practices (Krishnaswami, 1979) at rearing room temperature of 25° - 27°C and relative humidity of 80 - 85 per cent. Larval mortality was recorded in different instars and the cumulative mortality formed the basis for determining the susceptibility. The original per cent mortality values were converted into angular transformations and the data were analysed statistically.

The pathogenic development of the fungus was confirmed by separately inoculating second and third instar larvae of *Bombyx mori* and constant observation of surface sterilised dead worms maintained in petridishes provided with moist blotting paper.

Silkworm breeds <i>Souches de ver à soie</i>	Instar infected <i>Age d'infection</i>	Per cent average mortality in different instars <i>Pourcentage moyen de la mortalité aux différents âges</i>			
		Second <i>Second</i>	Third <i>Troisième</i>	Fourth <i>Quatrième</i>	Fifth <i>Cinquième</i>
Pure Mysore/ <i>Pure Mysore</i>	Second/ <i>2ème</i>	7.60 (16.00)*	18.03 (25.10)	10.11 (18.53)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	-	16.40 (23.89)	8.35 (16.74)
Hosa Mysore/ <i>Hosa Mysore</i>	Second/ <i>2ème</i>	12.30 (20.53)	30.20 (33.34)	9.75 (18.15)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	7.50 (15.89)	20.25 (26.71)	12.75 (20.88)
NB ₁₈	Second/ <i>2ème</i>	22.75 (28.45)	51.25 (45.69)	25.00 (30.00)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	22.50 (28.32)	45.00 (42.13)	22.75 (28.45)
NB ₄ D ₂	Second/ <i>2ème</i>	14.07 (22.06)	41.35 (39.99)	10.82 (19.19)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	13.82 (21.81)	25.20 (30.13)	17.72 (24.88)
KA	Second/ <i>2ème</i>	20.10 (26.64)	52.75 (46.55)	20.15 (26.64)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	18.75 (25.62)	44.20 (41.67)	22.30 (28.18)
NB ₇	Second/ <i>2ème</i>	15.00 (22.79)	41.25 (39.93)	8.25 (16.64)	-
	Third/ <i>3ème</i>	-	12.60 (20.79)	24.65 (29.73)	7.50 (15.89)

* Figures in parentheses are angular transformed values. / * Les nombres entre parenthèses sont les transformées. angulaires.

Table I : Larval mortality accrued in different instars of some breeds of *Bombyx mori* when infected with *Aspergillus flavus* during second and third instars.

Tableau I : Mortalité des larves de différentes souches de *Bombyx mori* en cas d'infection d' *Aspergillus flavus* pendant les 2ème et 3ème âges larvaires.

Instars Ages larvaires	Silkworm breeds / <i>Souches de vers à soie</i>						Mean <i>Moyenne</i>
	PM	HM	NB ₁₈	NB ₇	NB ₄ D ₂	KA	
Second <i>2ème</i>	35.75 (36.69)*	52.25 (46.29)	99.00 (85.10)	64.50 (53.45)	66.25 (54.51)	93.00 (74.78)	68.46 (58.47)
Third <i>3ème</i>	24.74 (29.83)	40.50 (39.53)	90.25 (71.94)	44.75 (41.99)	56.75 (48.88)	82.25 (67.47)	57.04 (49.94)
Mean <i>Moyenne</i>	30.25 (33.26)	46.37 (42.91)	94.62 (78.58)	54.62 (47.72)	61.50 (51.70)	89.12 (71.72)	

* Angular transformed figures / * *valeurs transformées angulaires*

Table II : Larval mortality in *Bombyx mori* when infected with *Aspergillus flavus*.

Tableau II : Mortalité des larves de *Bombyx mori* en cas d'infection de l' *Aspergillus flavus*.

	Sem ± <i>Intervalle de confiance ±</i>	CD at 5% <i>Difference critique à 5%</i>
<i>Silkworm breeds / Souches de ver à soie</i>	6.5696	12.88
<i>Instars / Ages larvaires</i>	4.899	7.44
<i>Breed x Instar / Souches x Ages</i>	1.41	18.21

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study are discussed below. The larval mortality values accrued in different instars due to *A. flavus* infection are presented in Table I. Table II indicates the consolidated data in respect of silkworm breeds, instars and their resultant interaction.

In case of second instar infection, maximum mortality in second instar was encountered in NB₁₈ breed (22.75%) closely followed by KA (20.10%). Least mortality was noticed in Pure Mysore (7.60%). All the bivoltine breeds exhibited more mortality during third instar (41.25 to 52.75%) compared to less mortality in Pure Mysore (18.03%) while in fourth instar also NB₁₈ (25.0%) and KA (20.15%) showed high mortality.

When the worms were infected in third instar, Pure Mysore breed showed mortality in fourth and fifth instars while the remaining breeds exhibited mortality starting from third instar itself and extending to fifth instar (Table I). NB₁₈ resulted in maximum mortality of 22.50, 45.00 and 22.75 per cent during third, fourth and fifth instars respectively, while the corresponding values for KA being 18.75, 44.20 and 22.30 per cent. Pure Mysore had minimum mortality of 16.40 and 8.35 per cent accrued during fourth and fifth instar. Veluswamy *et al.* (1973) also observed the death of rice skipper, *Pelopidas mathias* infected by *A. flavus* to occur at five to seven days after infection. It is obvious from Table II that NB₁₈ (94.62%) and KA (89.12%) resulted in significantly maximum mortality indicating their high susceptibility to *A. flavus* infection. NB₄ D₂ (61.50%) and NB₇ (54.62%) registered statistically equal mortality and the latter was the same as that of Hosa Mysore (46.37%). Larval mortality was least in Pure Mysore (30.25%) suggesting its less susceptibility to the pathogen. Further, the second instar silkworms were highly susceptible (68.46%) compared to those of third instar (57.04%). This trend of reduction in mortality rate with infection at advanced age is comparable with the pathogenicity of *A. tamaris* on *Dasychira mendosa* Hubner (Chinnaswamy *et al.*, 1986).

The six silkworm breeds showed differential degree of susceptibility to *A. flavus* in that the bivoltine breeds were more susceptible than polyvoltine breeds. Kawakami (1975) observed Chinese silkworm breeds to be more resistant than Japanese breeds to *Aspergillus* disease. Israngkul (1974) and Sinchaisuri (1973) concluded that Thai polyvoltine strains of *Bombyx mori* were less susceptible to *A. flavus* infection than the bivoltine strains. In the current study also two bivoltine breeds viz., NB₁₈ and KA were more susceptible while Pure Mysore was less susceptible. Chinnaswamy and Devaiah (1984) also reported high susceptibility of KA and least susceptibility of Pure Mysore to infection by *A. tamaris* Kita. Presently, polyvoltine breed Hosa Mysore behaved in between Pure Mysore and bivoltine breeds with regard to susceptibility. Yanagita (1980) investigated the mechanism of the fungus infection through the skin of the larvae by determining the decomposition of chitin in the cuticle by liquifying or saccharifying activities of the chitinolytic enzymes of *A. flavus oryzae*. Such a decomposition was marked at early time in the growth of the fungus. The decomposition of chitin as determined by the liquifying activity of the fungus occurred in parallel with pathogenicity. In the present study the varied rate of chitin decomposition of larval skin may be attributable to the encountered susceptibility rates of the silkworm strains and this needs further confirmity.

The proteinase inhibitors in the haemolymph of *Bombyx mori* inhibited the purified fungal proteinase crystallised from *Aspergillus mellans*. A clear difference between different strains of silkworm in the electrophoretic pattern of haemolymph inhibitor was evident (Eguchi, 1982). Existence of such a phenomenon may also be highly responsible for the differential rate of susceptibility of currently studied silkworm strains to *A. flavus*, once the fungus gains access to haemocoel. The fact that the second instar worms were more susceptible to *A. flavus* infection compared to third instar may be attributable to high decomposition of chitin in the former that enabled successful penetration of fungal germ tube to the haemocoel.

Chinnaswamy (1983) encountered no mortality of the silkworms infected with *A. tamaris* during fourth and fifth instar. But Venkataramana Reddy (1978) observed the fourth and fifth instar silkworms to be highly susceptible to the fungus *Beauveria bassiana* and multivoltine strain Pure Mysore to be highly resistant compared to the bivoltine silkworm strains. Thus, it can be inferred that

the silkworm age susceptibility is largely dependent on the specific fungal pathogen while the silkworm strain susceptibility is not so.

REFERENCES

ANONYMOUS, (1975), Field survey of incidence of various silkworm diseases in Channapatna and Kolar areas of Karnataka State. Annual Report: 1974-75. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 89-92.

CHINNASWAMY K.P., (1983), Studies on Aspergillosis of the silkworm *Bombyx mori* L. caused by *Aspergillus tamarii* Kita. M. Sc. (Agri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.

CHINNASWAMY K.P., DEVAIAH M.C., (1984), Susceptibility of different races of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus to aspergillosis caused by *Aspergillus tamarii* Kita to *Dasychira mendosa* Hubner (Lepidoptera: Lymantriidae) a pest of mulberry, Entomon, 11, 67-68.

CHINNASWAMY K.P., REDDY D.N.R., GOVINDAN R., NARAYANASWAMY T.K., (1986), Pathogenicity of *Aspergillus tamarii* Kita to *Dasychira mendosa* Hubner (Lepidoptera: Lymantriidae), a pest of mulberry. Entomon, 11, 67-68.

EGUCHI M., (1982), Inhibition of fungal protease by haemolymph protease of the silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Applied Entomology and Zoology, 17, 589-590.

ISRANGKUL L., (1974), Varietal resistance of silkworm to *Aspergillus* disease. Bull. Thai Seric. Res. & Train. Institute, 4, 113.

ISRANGKUL L., SINCHASURI N., (1973), Varietal resistance of silkworm to *Aspergillus* disease. Bull. Thai. Seric. Res. & Train. Institute, 3, 108-111.

KAWAKAMI K., (1975), Susceptibility of several varieties of the silkworm *Bombyx mori* L. to *Aspergillus* disease and germination of fungus spores in larval haemolymph. J. Seric. Sci. Jpn., 44, 39-44.

KOIDSUMI K., (1957), Antifungal action of cuticular lipids in insects. J. Insect Physiol., 1, 40-51.

KRISHNASWAMI S., (1979), Improved method of rearing young age silkworms. Bull. No 3, Central Silk Board, Bangalore, 24.

VELUSWAMY R., JANAKI I.P., PALANICHAMY A., JAGANATHAN, (1973), Pathogenicity of *Aspergillus flavus* on rice skipper *Pelopidas mathias* (Hesperiidae: Lepidoptera). Madras Agric. J., 60, 575.

VANKATARAMANA REDDY M.R., (1978), Studies on white muscardine disease of the silkworm, *Bombyx mori* L.. M. Sc., (Agri) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.

YANAGITA T. (1980), Studies on the formaldehyde resistance of *Aspergillus* fungi attacking the silkworm larvae V on the decomposition of larval chitin of larval skin by *Aspergillus flavus oryzae* fungi., J. Seric. Sci. Jpn., 49, 446-450.

ETUDE COMPAREE DE LA SENSIBILITE A *ASPERGILLUS FLAVUS* LINK CHEZ QUELQUES SOUCHES DE VERS A SOIE.

T.K. NARAYANASWAMY ET R. GOVINDAN

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Bangalore 560-065, Inde.

*La sensibilité à *Aspergillus flavus* Link a été testée chez deux souches polyvoltines de vers à soie (Pure Mysore et Hosa Mysore) et quatre souches bivoltines (NB₁₈, NB₁₇, NB₄D₂ et Kalimpong A). On a provoqué la contamination en vaporisant le tégument larvaire avec une suspension conidiale aux second et troisième âges séparément. NB₁₈ et Kalimpong A se sont montrés les plus sensibles, suivis par NB₄D₂ et NB₇. Pure Mysore est le moins sensible. Le deuxième âge est moins sensible que le troisième.*

INTRODUCTION

On a démontré que l'immunité des vers à soie contre les champignons est due à ses lipides cuticulaires (Koidsumi, 1957). L'aspergillose due à plusieurs espèces d'*Aspergillus* est l'un des groupes importants des maladies du ver à soie *Bombyx mori* L. au cours des premiers âges. Kawakami (1975) a étudié la sensibilité différentielle à *Aspergillus flavus* Link de trois souches japonaises (J₁₂₄, J₁₃₁ et J₁₃₄) et de deux souches chinoises (C₁₂₄ et C₁₃₅) de *Bombyx mori*. Les souches japonaises se sont montrées relativement plus sensibles à l'infection. L'augmentation des pertes dues à diverses maladies du ver à soie est plus importante chez les races bivoltines que chez les polyvoltines indiennes (Anonyme, 1975). Chinnaaswamy et Devaiah (1984) ont étudié la sensibilité chez quelques souches de vers à soie vis à vis de *A. tamarii* Kita. La littérature existante sur ce sujet n'apporte aucune information sur la sensibilité relative à l'infection par *A. flavus*. Aussi, nous avons mené cette expérience pour connaître la sensibilité relative des souches courantes du Karnataka, le principal état producteur de soie en Inde.

MATERIELS ET METHODES

La sensibilité à *A. flavus* a été testée chez deux souches polyvoltines, à savoir Pure Mysore et Hosa Mysore, et quatre souches bivoltines NB₁₈, NB₄D₂, NB₇ et Kalimpong A (KA). Les conidies ont été suspendues dans de l'eau distillée et leur nombre par ml a été mesuré à l'aide d'un hémodécomètre. La contamination des vers au début des second et troisième âges des souches mentionnées ci-dessus a été effectuée sur chaque souche séparément en vaporisant une suspension de spores sur le tégument ; 4 ml d'une suspension conidiale 2,68 millions de conidies/ml ont été vaporisés sur 100 vers pour chaque réplicat. Les vers ont été élevés suivant les pratiques recommandées (Krishnaswami, 1979) à une température de 25 - 27°C et 80-85% d'humidité relative. La mortalité larvaire a été enregistrée aux différents âges et la mortalité cumulée a servi de base pour

le calcul de la sensibilité. Les valeurs du pourcentage de mortalité ont été converties en transformées angulaires et les données ont fait l'objet d'une analyse statistique.

Le développement pathogène du champignon a été confirmé par inoculation des larves de *B. mori* du 2ème et 3ème âges respectivement et une observation continue de la surface des vers morts stérilisés maintenus dans des boîtes de Pétri tapissées d'un buvard humide.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de cette étude sont discutés ci-dessous. Les valeurs de la mortalité larvaire aux différents âges causée par *A. flavus* sont données dans le Tableau I. Le Tableau II indique les données en fonction des races de vers à soie, des âges larvaires et les interactions qui en résultent.

Dans le cas d'infection au 2ème âge, la mortalité la plus forte au 2ème âge survient chez NB18 (22,75%) suivi de près par KA (20,10%). La mortalité la plus faible est observée chez Pure Mysore (7,60%). Toutes les souches bivoltines donnent une mortalité plus forte pendant le 3ème âge (de 41,25 à 52,75%) par rapport à Pure Mysore (18,03%), alors que pendant le 4ème âge NB18 (25,0%) et KA (20,15%) présentent aussi une forte mortalité.

Parmi les vers infestés au 3ème âge, la mortalité chez Pure Mysore survient aux 4ème et 5ème âges, alors que chez les autres souches, la mortalité apparaît au 3ème âge et s'étend jusqu'au 5ème âge (Tableau I). NB18 donne une mortalité maximum de 22,50 ; 45 et 22,75% au cours des 3ème, 4ème et 5ème âges respectivement, tandis que les valeurs correspondantes pour KA sont de 18,75 ; 44,20 et 22,30%. Pure Mysore présente une mortalité minimum de 16,40 et 8,35% qui s'élève aux 4ème et 5ème âges. Veluswamy et coll. (1973) ont également observé la destruction du ver du riz, *Pelopidas mathias* infesté par *A. flavus*, cinq à sept jours après le début de l'infection.

Le Tableau II indique que NB 18 (94,62%) et KA (89,12%) subissent une mortalité maximum significative indiquant une forte sensibilité à l'infection par *A. flavus*. NB4D2 (61,50%) et NB7 (54,62%) subissent statistiquement une mortalité identique à celle de Hosa Mysore (46,37%). La mortalité larvaire est moindre chez Pure Mysore (30,25%) laissant supposer une moindre sensibilité au pathogène. De plus, les vers du 2ème âge sont plus sensibles (68,46%) que ceux du 3ème âge (57,04%). Cette tendance à une diminution du taux de mortalité à des âges avancés est comparable à la pathogénicité de *A. tamaris* sur *Dasychira mendosa* Hubner (Chinnaswamy et coll., 1986).

Les six souches de vers à soie présentent des degrés de sensibilité différents à *A. flavus*, les souches bivoltines étant plus sensibles que les souches polyvoltines. Kawakami (1975) a observé que les souches de vers à soie chinoises sont plus résistantes à la maladie provoquée par *Aspergillus* que les souches japonaises. Israngkul (1974) et Sinchaisuri (1973) ont conclu que les souches polyvoltines de *B. mori* thaïlandaises sont moins sensibles à l'infection par *A. flavus* que les souches bivoltines. Dans cette étude, il apparaît aussi que deux souches bivoltines, à savoir NB18 et KA sont plus sensibles tandis que Pure Mysore est moins sensible. Chinnaswamy et Devaiah (1984) ont aussi noté une grande sensibilité de KA et une moindre sensibilité de Pure Mysore à l'infection par *A. Tamaris* Kita. Actuellement, la race polyvoltine Hosa Mysore se place entre les races Pure Mysore et les races bivoltines en ce qui concerne la sensibilité. Yanagita (1980) a fait des recherches sur le mécanisme de l'infection du champignon à travers la peau des larves en déterminant la décomposition de la chitine dans la cuticule par les activités liquéfiantes ou saccharifiantes des enzymes chitinolytiques de *A. flavus oryzae*. Une telle décomposition est marquée dès le début du développement du champignon. La décomposition de la chitine déterminée par l'activité liquéfiante du champignon survient parallèlement à la pathogénicité. Dans notre étude, le taux variable de décomposition de la chitine de la peau larvaire peut être attribué aux taux de sensibilité rencontré chez les souches de vers à soie et cela demande à être confirmé.

Les inhibiteurs de protéases de l'hémolymph chez *Bombyx mori* ont inhibé la protéinase purifiée cristallisée du champignon *Aspergillus mellans*. Une différence très nette a pu être notée

entre les différentes souches de vers à soie, quant au profil électrophorétique de l'inhibiteur de l'hémolymph (Eguchi, 1982). Un tel phénomène peut être aussi à l'origine du taux différentiel de sensibilité à *A. flavus* des vers à soie présentement étudiés, lorsque le champignon a accès à l'hémocèle. Le fait que les vers du second âge soient plus sensibles à l'infection de *A. flavus* par rapport à ceux du troisième âge peut être attribué à la forte décomposition de la chitine dans le premier groupe ce qui a permis une pénétration aisée du gène fongique dans l'hémocèle.

Chinnaswamy (1983) n'a observé aucune mortalité chez les vers à soie infestés par *A. tamarif* pendant les 4ème et 5ème âges. Mais Venkataramana Reddy (1978) a observé que les vers à soie aux 4ème et 5ème âges sont hautement sensibles au champignon *Beauveria bassiana* et la race polyvoltine Pure Mysore est très résistante par rapport aux souches de vers à soie bivoltines. On peut donc en déduire que la sensibilité par rapport à l'âge du ver à soie dépend du type de champignon pathogène ; cela ne s'applique pas à la sensibilité en fonction des souches de ver à soie.

GENETIC ARCHITECTURE OF ECONOMIC TRAITS IN SOME STRAINS OF MULBERRY SILKWORMS *BOMBYX MORI* L.

I. COMBINING ABILITY ANALYSIS

D.S. TAYADE

Sericultural Research Unit, Marathwada Agricultural University, Parbhani 431 402, India

*The present paper deals with the combining ability analysis for various economic traits in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. under Marathwada conditions. Combining ability analysis in F₁ and F₂ generations revealed high significance of gca variance for all the characters.*

The parents NB7 and NB18 showed high gca effects for yield and also were found to be good combiners for larval period, weight of silk glands, filament length. The parent NB4D2 had high gca effects for larval period, silk gland weight, shell weight and shell percentage. The multivoltine parent, HM showed significant and negative gca effects for most of the characters but it was a good combiner for a majority of the traits. The crosses HM x NB4D2, HM x NB7 and HM x NB18 showed significant and positive sca effects for most of the economic characters. Similarly these crosses showed significant and negative sca effects for larval period and floss percentage which are desirable traits. The bivoltine hybrids NB7 x NB18, NB18 x NB4D2, had also shown high sca effects for weight of silk glands, single cocoon weight, filament length and yield of cocoons. It is possible to isolate crosses of multivoltine x bivoltine nature where constant high sca effects were observed for most of the characters. The results of F₂ generation were inferior to F₁ for all the characters except total number of eggs per laying. Very high fecundity was observed in F₂ generation in all the crosses. In reciprocals, bivoltine x multivoltine showed high sca effects in most of the crosses. Higher magnitude of maternal effect was present for yield.

INTRODUCTION

Success in the breeding programme depends on the genetic variation in the available germplasm and the knowledge of the genetic architecture of the economic traits. Not much is known about the genetic control of the different biometric traits of the silkworm races being used. In India, combining ability in silkworm has been reported only by Sengupta *et al.*, (1974) and Subba Rao (1983). Krishnaswami *et al.*, (1964) made diallel analysis of quantitative characters in multivoltine races of silkworm through graphical analysis. However, extensive analysis of silkworm, *Bombyx mori* L. has been undertaken in other countries.

The combining ability analysis helps in testing the independence of genotypic effects from environmental effects and provides information of cytoplasmic effects, estimates of general and specific combining ability effects, additive and dominance type of gene action and different non-allelic interaction. The present investigation was undertaken to analyse the genetic basis of some economically important characters in silkworm under Marathwada conditions.

Mean Squares/ <i>Carrés moyens</i>							
Source of variation <i>Source de variation</i>	Degree of freedom <i>Degré de liberté</i>	Total no. of eggs/ laying <i>No. total d'oeufs/ ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids 10 larves arrivées à maturité (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (en jours)</i>	Weight of silk glands (g) <i>Poids des glandes séricigènes (g)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel</i>
1	2	3	4	5	5	7	8
gca	3	2369.10**	39.98**	9.764	1.651**	0.026**	0.0154**
sca	6	961.02*	-4.41**	53.522**	0.858**	0.051**	0.0518**
Reciprocals <i>Réciproques</i>	6	11331.12**	35.40**	28.502*	0.497**	0.011**	0.0474**
Error <i>Erreur</i>	60	369.10	0.204	9.258	0.098	0.001	0.0011
6 ² g		181.80	5.49	-5.04	0.106	0.002	-0.004
6 ² s		364.25	-2.84	27.23	0.467	0.031	0.031
6 ² r		5841.01	17.59	9.62	0.199	0.005	0.023
gca/sca		2.46	-9.04	0.182	1.924	0.509	.294
6 ² g/6 ² s		0.50	-1.93	-0.18	0.23	0.06	-0.13

TABLE I/TABLEAU I

Continued/*Suite page suivante.*

Source of variation <i>Source de variation</i>	Degree of freedom <i>Degré de liberté</i>	Mean squares/ <i>Carrés moyens</i>				
		Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
		9	10	11	12	13
gca	3	0.00376**	7.07**	1.349**	63006.12**	0.6049**
sca	6	0.00247**	0.52**	4.716**	17981.30**	3.1204**
Reciprocal <i>Réciproque</i>	6	0.00139**	0.35**	0.418**	2422.25*	4.4706**
Error <i>Erreur</i>	60	0.00004	0.13	0.071	889.44	0.0508
6 ² _g		0.00018	0.82	-0.376	5792.44	-0.2849
6 ² _s		0.0149	0.24	2.858	10518.06	1.8889
6 ² _r		0.00067	0.11	0.173	766.40	2.2099
gca/sca	1.52	13.59	0.286	3.50	0.1938	
6 ² _g /6 ² _s		0.12	3.41	-0.13	0.55	-0.15

* Significant at 5 % level/*Significatif à un niveau de 5 %*

** Significant at 1 % level/*Significatif à un niveau de 1 %*

Table I : Analysis of variance for combining ability for economic characters in F₁ diallel

Tableau I : Analyse de variance pour la capacité combinatoire des caractères économiques dans le diallele F₁

MATERIALS AND METHODS

Four promising and genetically diverse parental silkworms, *Bombyx mori* L. were procured from Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore formed the experimental material of the present study. These were (1) Hosa Mysore (HM) - A fixed multivoltine line derived from A4 e x pure Mysore, larvae plain with very dim mask; cocoons yellow and oblong or spindle-shaped; (2) NB7 - A derivative from Japanese hybrid Kinshu Showa, bivoltine, larvae plain white, cocoons white oval in shape; (3) NB18 - A bivoltine line isolated from the polyhybrid (Kokuko - Seihaku) x (N₁₂₄ x C₁₂₄), larvae plain white, cocoons white, dumbbell-shaped and longer; (4) NB4D2 - A bivoltine line derived from the polyhybrid (Kokuko x Seihaku) x (N₁₂₄ x C₁₂₄), larvae plain white, cocoons white with constricted shorter.

These four races have been maintained in the germplasm collection of this Research Unit by assortative mating. These parental stocks were reared in the laboratory by adopting the technology suggested by Krishnaswami (1978) and further utilized for effecting F₁ hybrids.

Crosses in all possible combinations including reciprocals were attempted in these four parents. Thus twelve crosses and four parents were studied for genetic architecture. Randomly selected five disease-free layings for each combination were released at once. The technique of Krishnaswami (1978) was followed for the rearing of these sixteen cultures. Chopped mulberry leaves of Kanva-2 variety were fed to the worms. During early larval stage mass rearing was done. The larvae, after coming out of second moult, were distributed into five replications. Each replication consisted of 100 worms.

The cocoons obtained from the F₁ generation of each cross and parents were released after recording the observations for developing F₂ population. The diallel set 12 F₂ populations was developed by intermating the adults of respective F₁ hybrid. The experiment, including F₂ populations and four parents, was laid out in randomized block design with five replications each having 100 worms. The rearing method was the same as followed in F₁ rearing. The F₁ rearing was started on 13.9.1983 while F₂ rearing was started from 3.11.1983.

The data recorded were used for further statistical analysis. For combining ability analysis, diallel tables were computed for parents, their hybrids and reciprocals. In this table each value was the mean over replication. The data first analysed to test the significance of genotypic differences in parents, F₁ and F₂ progenies.

The combining ability analysis was carried out by Griffing (1956), Method-1 was applicable because the parents, their F₁'s and reciprocals were included.

RESULTS AND DISCUSSION

The combining ability analysis for various economic traits, viz. number of eggs per laying, hatching percentage, weight of 10 full-grown larvae, larval period, silk glands, single cocoon and shell weight, silk content, floss percentage, filament length and yield of cocoons in F₁ and F₂ generations are presented in Tables - 1 and 2 respectively. In both generations the gca and sca variances were highly significant for all the characters except gca effect for weight of 10 full-grown larvae in F₁ generation. The variances due to reciprocal effect were also highly significant except floss percentage in F₂ generation. In general, the gca : sca variance ratio was more than unity for the majority of the characters in both generations. The ratio was more than unity in 9 characters out of 10 characters in F₂ generation as against 6 characters out of 11 in F₁ generation. This indicated the shift of sca variance from higher to lower side in F₂ generation. The maximum gca : sca variance ratio was observed for the characters shell percentage followed by percentage hatching, filament length and total number of eggs per laying in F₁ generation. In F₂ generation, the ratio was highest for the character filament length followed by single cocoon weight, total number of eggs per laying, yield per 10,000 larvae brushed, shell weight and larval period. This indicated the additive gene action for the control of these traits. Higher magnitude of additive gene action in the F₂ suggested that it should be possible to select for desirable traits in F₂ and develop superior races.

Further, it is seen from F₁ and F₂ analysis of variance that the trend of significance of gca and sca variance is constant. However, the magnitude differed from one generation to the next. Gupta &

Source of variation <i>Source de variation</i>	Degree of freedom <i>Degré de liberté</i>	Mean Squares/Carrés moyens				
		Total no. of eggs/ laying <i>No. total d'oeufs/ ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids de 10 larves arrivées à maturité (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (en jours)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel</i>
1	2	3	4	5	5	7
gca	3	18241.63**	35.00**	9.645**	9.128**	0.0226**
sca	6	4704.88**	23.94**	5.583**	3.492**	0.0042**
Reciprocals <i>Réciproques</i>	6	6405.69**	24.32**	6.261**	2.830**	0.0049**
Error <i>Erreur</i>	60	436.47	6.30	0.138	0.116	0.0012
6 ² _g		1733.13	1.55	0.560	0.736	0.0023
6 ² _s		2626.71	10.85	3.350	2.077	0.0018
6 ² _r		2984.61	9.00	3.061	1.357	0.0018
gca/sca		3.87	1.46	1.72	2.61	5.38
6 ² _g /6 ² _s	0.66	0.14	0.17	0.35	1.26	

TABLE II/TABLEAU II

Continued/Suite page suivante

Mean squares/Carrés moyens						
Source of variation <i>Source de variation</i>	Degree of freedom <i>Degré de liberté</i>	Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
		8	9	10	11	12
gca	3	0.00203**	2.54**	1.554**	22564.22	0.755**
sca	6	0.00070**	1.58**	2.222**	10127.32**	0.231**
Reciprocal <i>Réciproques</i>	6	0.00023**	1.62**	0.234**	3210.62**	0.724**
Error <i>Erreur</i>	60	0.00006	0.17	0.182	866.36	0.002
6 ² _g		0.0001	0.13	-0.063	1643.63	0.067
6 ² _s		0.0003	0.86	1.255	5699.05	0.141
6 ² _r		0.0000	0.72	0.026	1172.13	0.360
gca/sca		2.9	1.60	0.699	21.97	3.26
6 ² _g /6 ² _s		0.33	0.15	-0.05	0.29	0.47

* Significant at 5 % level/Significatif à un niveau de 5 %

** Significant at 1 % level/Significatif à un niveau de 1 %

Table II : Analysis of variance for combining ability for economic characters in F₂ diallel

Tableau II : Analyse de variance pour la capacité combinatoire des caractères économiques dans le diallèle F₂

Characters/Caractères						
Parents <i>Parents</i>	Total no. of eggs/ laying <i>No. total d'oeufs/ ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids de 10 larves arrivées à maturité (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (en jours)</i>	Weight of silkglands (g) <i>Poids des glandes séricigènes (g)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel</i>
1	2	3	4	5	6	7
Hosa Mysore (HM)	22.650**	1.327**	-0.527	-0.520**	-0.075**	-0.017
NB7	4.025	-6.77**	1.512	-0.213*	0.062**	0.064**
NB18	-11.975**	2.177**	-1.045	.236*	-0.007	-0.033**
NB4D2	-14.700**	-2.827**	0.060	0.497**	0.020*	-0.014
SE (gi) ±	5.882	0.1382	0.931	0.095	0.0096	0.0101
CD	11.764	0.2765	1.863	0.191	0.0193	0.0203
SE (gi-gj) ±	9.605	0.2258	1.521	0.156	0.0158	0.0165
CD	19.211	0.4516	3.042	0.313	0.0316	0.0331

TABLE III/TABLEAU III

Continued/Suite page suivante

Parents <i>Parents</i>	Characters/ <i>Caractères</i>				
	Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
	8	9	10	11	12
Hosa Mysore (HM)	-0.029**	-1.363**	0.373**	-88.037**	-0.133
NB7	0.021**	0.448**	0.026	122.312**	0.263**
NB18	-0.003	0.163	-0.578**	-29.962**	0.191**
NB4D2	0.011**	0.751**	0.178*	-4.312	-0.321**
SE (gi)±	0.0019	0.1117	0.081	9.131	0.0690
CD	0.0038	0.2234	0.163	18.263	0.1380
SE (gi-gj) ±	0.0031	0.1824	0.133	14.911	0.1126
CD	0.0063	0.3684	0.267	29.823	0.2253

* Significant at 5 % level/*Significatif à un niveau de 5 %*

** Significant at 1 % level/*Significatif à un niveau de 1 %*

Table III : Estimates of general combining ability effects for economic characters in F₁ diallel

Tableau III : Evaluation des effets de la capacité combinatoire pour les caractères économiques dans le diallèle F₁

Ramanujan (1974) reported differences in the estimates of sca in F₁ and F₂ generations in crops. The difference could be due to segregation and recombination to be expected in F₂ and genotype x environment interaction ; and low heritability of the character.

The general combining ability estimates studied in F₁ and F₂ generations are presented in Tables 3 and 4 respectively. Similarly, the estimates of specific combining ability and reciprocal effects in F₁ and F₂ are presented in Tables 5 and 6 respectively for economic traits. The results of general and specific combining ability and reciprocal effects are discussed below.

Number of eggs per laying

In F₁ highly significant and positive gca effects were observed in the parent HM. Similarly in F₂, HM and NB₇ had shown positive and significant gca effects. The rest of the parents showed either negative or low gca effects. From the results, it can be concluded that the cross combination of HM x NB₇ may prove to be superior in increasing the total number of eggs per laying.

Estimates of specific combining ability revealed that the sca effects were either low or negative in F₁ generation, whereas in F₂ the cross combinations of HM x NB₇ and HM x NB₄D₂ showed significant and positive effect. These crosses involved high x high and high x low general combiners. Benchamin *et al.*, (1983) reported that the bivoltine race could be utilized as a male parent with multivoltine breed for preparation of commercial seed and the performance was on a par with that of bivoltine pure races.

The reciprocal effects were positive and significant in four out of six crosses in F₁ and F₂ generations. The trend of sca effects in F₁ and F₂ generations clearly revealed the substantial reciprocal effects in silkworm, *Bombyx mori*. The increased sca effects in the reciprocal crosses may be attributed to the cytoplasmic contribution of the parents involved.

Hatching percentage

Highly significant and positive gca effects were observed in HM and NB₇ in F₁ and F₂ generations respectively. However, the parent NB₇ showed only positive gca effect in F₁ generation. The rest of the parents showed significant and negative gca effects.

Significant and positive gca effects were observed in the crosses HM x NB₄D₂ and NB₇ x NB₄D₂ in F₁ generation and HM x NB₁₈ in F₂ generation. The parents involved were high x high and high x low general combiners.

The reciprocal effects were positive and significant in four out of six crosses in F₁ generation and in only one cross in F₂. The reduction in reciprocal effect from F₁ to F₂ generation may be attributed to the reduction in heterozygosity.

Weight of 10 full-grown larvae

In F₂ generation, the parents NB₇ and NB₁₈ showed significant and positive gca effects.

The cross HM x NB₄D₂ in F₁ and F₂ generations and the cross HM x NB₁₈ in F₂ generation showed significant and positive sca effects. The reciprocal effects in F₁ generation were more pronounced than in F₂ generation. Significant and positive maternal contribution was noticed in two crosses in F₁ and F₂ generation.

Larval period

Significant and negative gca effects were recorded in HM and NB₇ in both F₁ and F₂ generations. The parents having negative gca effects, if involved in the cross combination, are likely to throw segregants which may exceed the range of better parents.

Significant and negative sca effects were observed in two crosses in F₁ and F₂ generations. The parents involved in these crosses were having negative gca effects or one of the parents had positive gca effects. Nagaraj *et al.*, (1983) also reported that when two parents having good combining ability are crossed, they form good hybrids with considerable sca effects. In the majority of the crops studies, it has been reported that the gca and sca effects showed good association with the *per se* performance of parents and hybrids respectively.

Parents <i>Parents</i>	Characters/ <i>Caractères</i>					
	Total no. of eggs/ laying <i>No. total d'oeufs/ ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids de 10 larves arrivées à maturité (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (en jours)</i>	Weight of silkglands (g) <i>Poids des glandes séricigènes (g)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel</i>
1	2	3	4	5	6	7
Hosa Mysore (HM)	39.262**	-0.217	-1.368**	-1.130**	-0.072**	-0.0223**
NB7	41.137**	2.995**	0.351**	-0.258**	0.0046	0.0126**
NB18	-53.887**	-1.038	1.251**	-0.052	0.0426**	0.0100**
NB4D2	-26.512**	-1.740*	-0.233*	1.440**	0.0290**	-0.0003
SE (gi) ±	6.396	0.768	0.113	0.104	0.0106	0.0023
	12.793	1.537	0.226	0.208	0.0213	0.0047
SE (gi) ±	10.445	1.255	0.185	0.170	0.0174	0.0038
	20.891	2.510	0.5253	0.340	0.0349	0.0077

TABLE IVTABLEAU IV

Continued/*Suite page suivante*

Parents <i>Parents</i>	Characters/ <i>Caractères</i>			
	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
	8	9	10	11
Hosa Mysore (HM)	-0.559**	0.567**	-66.300**	-0.452**
NB ₇	0.710**	-0.472**	62.825**	0.095**
NB ₁₈	0.173	-0.176	9.250	0.232**
NB ₄ D ₂	-0.324*	0.081	-5.775	0.125**
SE (gi) ±	0.127	0.130	9.012	0.0015
	0.254	0.261	18.024	0.031
SE (gi) ±	0.207	0.213	14.716	0.025
	0.586	0.426	29.433	0.050

* Significant at 5 % level/ *Significatif à un niveau de 5 %*

Table IV : Estimates of general combining ability effects for economic characters in F₂ diallel

Tableau IV : Evaluations des effets de la capacité combinatoire générale pour les caractères économiques dans le diallèle F₂

Weight of Silk glands

The parents NB7 and NB4D2 had recorded positive and significant gca effects. Out of six, four crosses showed significant and positive effects. The parents involved in the crosses were positive x positive, positive x negative or negative x negative general combiners. The reciprocal effects were significant in NB18 x HM and NB4D2 x NB18.

Single cocoon weight

In F₁ generation, the parent NB7 and in F₂ generation, the parents NB18 and NB4D2 were found to have significant and positive gca effect. The parents having high gca effects were also having high mean performance in F₁ and F₂ generations.

In F₁ generation, in five crosses significant and positive sca effects were observed. Maximum sca effect was observed in HM x NB4D2 followed by NB7 x NB4D2 and HM x NB18. However, in F₂ generation only HM x NB4D2 showed significant sca effects. The cross, HM x NB4D2 showed superior mean performance in both generations, even though the gca effects in F₁ generation were observed to be negative and very low. The increased performance of this particular cross may be attributed to the dominance gene action operating in this character.

In F₁ generation, the reciprocal effects were more apparent than F₂ generation. Out of six, five crosses showed significant and positive sca effects. However, in F₂ generation, only in two crosses the effects were positive and significant.

Shell weight

Significant and positive gca effects were observed in the parent NB7 in F₁ and F₂ generations. Similarly, parents NB4D2 and NB18 had also shown significant and positive gca effects in F₁ and F₂ generation respectively.

In F₁ generation, the trend of sca effects was similar to that for single cocoon weight. Five crosses showed significant and positive sca effects. In F₂ population, the crosses, HM x NB4D2 and HM x NB18 had significant and positive sca effects. The parents involved in these combinations had either positive or negative gca effects.

In reciprocal, all the six crosses exhibited positive sca effects and they were also significant except the cross NB18 x NB7. In F₂ generation, four crosses showed positive sca effects and two of them (NB7 x HM and NB4D2 x HM) were significant. Nagaraj *et al.*, (1983) also reported significant general combining ability effect in bivoltine strains and also significant sca effects in the various economic characters. They also observed that the parents having good gca effects could form a better yielding hybrid with high sca effects. In the present studies also the bivoltine strains were found to have better general combining ability effects. Petkov *et al.*, (1977) observed cytoplasmic effect for the characters cocoon and silk cover weight when four reciprocal crosses were studied.

Shell percentage

The parent NB7 showed significant and positive gca effects in F₁ and F₂ generation. The higher gca effect was associated with the *per se* mean performance. The parent NB4D2 also showed the same results in F₁ generation.

Significant and positive sca effects were observed in the crosses HM x NB4D2 and HM x NB18 in F₁ and F₂ generations respectively. Positive sca effects were also observed in the crosses NB7 x NB4D2, HM x NB7 in F₁ and HM x NB4D2 and NB7 x NB18 in F₂ generation. The parents involved in these crosses were low x high general combiners.

None of the reciprocal crosses had shown significant and positive sca effects during F₁ generation. However, the cross NB7 x HM was only significant and positive in F₂ generation. Nagaraj *et al.*, (1983) observed significant gca and sca effects in new bivoltine lines which indicated the importance of both additive and dominance type gene actions.

Floss percentage

The parents NB18 and NB7 had shown significant and positive gca effects in F₁ and F₂ generations respectively. The multivoltine, HM had shown significant and positive gca effects in both the generations. It is known that the high floss percentage is associated with multivoltine races of

Treatment Traitement	Total no. of eggs/laying <i>No. total d'oeufs/ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids de 10 larves arrivées à maturité</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (g) (en jours)</i>	Weight of silkglands (g) <i>Poids des glandes séricigènes (g)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel (g)</i>
1	2	3	4	5	6	7
Hybrids						
HM x NB ₇	-0.6750	-5.960**	-0.032	-0.381*	0.040*	0.056**
HM x NB ₁₈	-20.5750	0.245	1.104	-0.686**	0.175**	0.085**
HM x NB ₄ D ₂	2.7500	5.280**	4.610**	-0.057	0.101**	0.973**
NB ₇ x NB ₁₈	-28.5500*	-0.445	-1.255	0.342	-0.036*	0.046*
NB ₇ x NB ₄ D ₂	-3.3250	2.020**	-0.570	0.151	0.50**	0.732**
NB ₁₈ x NB ₄ D ₂	8.7750	-1.015**	-2.222	0.006	-0.144*	-0.104**
SE (Sij) ±	10.7398	0.2524	1.700	0.175	0.017	0.018
	21.4796	0.5049	3.401	0.350	0.035	0.037
SE (Sii-Sjj) ±	19.2119	0.4516	3.042	0.313	0.031	0.003
	38.4239	0.9033	6.085	0.625	.063	0.066
Reciprocals						
NB ₇ x HM	119.40**	6.920**	2.270	0.855*	0.026	0.131
NB ₁₈ x HM	76.70**	2.200**	4.750*	-0.040	0.117**	0.255**
NB ₄ D ₂ x HM	94.70**	3.080**	7.120**	0.325	0.031	0.218**
NB ₁₈ x NB ₇	-56.10**	0.455	-1.410	-0.435	0.041	0.000
NB ₄ D ₂ x NB ₇	28.00*	-1.035**	0.560	-0.495*	-0.006	0.095**
NB ₄ D ₂ x NB ₁₈	30.90*	5.245**	2.190	0.470*	0.127**	0.053
SE (rjj) ±	13.584	0.3193	2.151	0.221	0.022	0.023
	27.169	0.6387	4.303	0.443	0.044	0.046

TABLE V/TABLEAU V

Continued/Suite page suivante

Treatment <i>Traitement</i>	Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
	8	9	10	11	12
Hybrids					
HM x NB7	0.007**	0.081	-2.469**	25.587	0.644**
HM x NB18	0.153**	-0.108	0.490**	-0.537	0.469**
HM x NB4D2	0.054**	0.758**	-0.070	140.812**	1.452**
NB7 x NB18	0.008**	-0.076	0.756**	46.912**	0.510**
NB7 x NB4D2	-0.008**	0.351	0.530**	31.862	0.447**
NB18 x NB4D2	-0.022	-0.178	-0.229	-31.762	-0.480**
SE(Sij) ±	0.003	0.203	0.149	16.671	0.125
	0.007	0.407	0.299	33.343	0.250
SE(Sii-Sjj) ±	0.006	0.364	0.267	29.823	0.225
	0.012	0.729	0.535	59.647	0.450
Reciprocals					
NB7 x HM	0.025**	0.105	0.945**	37.200	2.063**
NB18 x HM	0.048**	0.260	0.160	46.410	2.241**
NB4D2 x HM	0.024**	-0.685**	0.415*	32.400	1.813**
NB18 x NB7	0.007	0.315	0.200	51.000	0.039
NB4D2 x NB7	0.008*	-0.480	0.160	8.000	0.672**
NB4D2 x NB18	0.019**	0.445	-0.315	3.900	0.627**
SE(rij) ±	0.004	0.257	-0.189	21.088	0.159
	0.008	0.515	0.378	42.176	0.218

* Significant at 5 % level/Significatif à un niveau de 5 %

** Significant at 1 % level/Significatif à un niveau de 1 %

Table V : Estimates of specific combining ability effects for economic characters in F₁ diallel.

Tableau V : Evaluation des effets de la capacité combinatoire spécifique pour les caractères économiques dans le diallèle F₁

silkworm.

Significant and negative sca effects were exhibited by the cross HM x NB7 in F₁ generation. NB18 x NB4D2 and HM x NB4D2 had shown negative sca effects. In F₂ generation, significant and positive sca effects were observed in the crosses NB7 x NB18 and NB7 x NB4D2. The parents involved in these crosses had shown significant and negative gca effects.

In reciprocal crosses, the combinations NB7 x HM and NB4D2 x HM exhibited significant and positive sca effects. This may be due to the involvement of parent HM which showed significant and positive gca effects. Petkov *et al.*, (1977) stated that the silkiness (floss) of the cocoons was obtained in the case of hybrid when the female parent had higher values for this character.

Filament length

Highly significant and positive gca effects were observed in the parent NB7 in both F₁ and F₂ generations. It had the highest *per se* mean. Significant and positive sca effects were observed in the crosses HM x NB4D2 and NB7 x NB18 in F₁ and F₂ generations. In addition, HM x NB7 was also significant in F₂ generation. The parents involved were either having negative or positive gca effects.

In the reciprocals, all the six crosses exhibited positive sca effects in F₁ generation. However, in F₂ generation, three crosses showed positive and the rest showed negative sca effects. The parent NB7 having high gca effects can be exploited in the breeding programme. Its combinations with NB18 were better in both generations. The high additive gene effects in the parents may throw superior segregants in the subsequent generations. Singh (1971) reported that, in crops, the crosses having a good performance may be expected to throw transgressive segregants in the subsequent generation.

Yield per 10,000 larvae brushed

The bivoltine parents NB7 and NB18 showed significant and positive gca effects in F₁ and F₂ generations. The other bivoltine parent NB4D2 was also significant in F₂ generation. The multivoltine HM, exhibited significant and negative gca effects.

All the crosses had shown significant and positive sca effects except the cross NB18 x NB4D2. HM x NB4D2 had shown the highest sca effects followed by HM x NB7 and HM x NB18 in both generations. The parents involved in these crosses had negative and positive gca effects. The remaining three crosses had shown significant and negative sca effects in F₂ generation. This may be due to segregation in F₂ population.

In F₁, positive reciprocal effects were observed in all the crosses, which were highly significant except in NB18 x NB7. Similarly, most of the crosses had shown significant and positive sca effects in F₂ generation. Higher magnitude of maternal effects was present for yield. Petkov *et al.*, (1977) also observed cytoplasmic effect in the reciprocal crosses for the economic characters.

It is seen from gca effects of the parents for different characters, NB7 ranks first followed by NB18. The strain HM had the maximum negative gca effects. The trend of gca effects in F₁ and F₂ generations indicated that most of the characters showed association with yield. In most of the economic characters, the multivoltine strain HM was found to be a good specific combiner. The high performance and sca effects are attributed to the diversity of the strains used (Jolly *et al.*, 1965, Krishnaswami *et al.*, 1964 and Sengupta *et al.*, 1974).

The multivoltine x bivoltine crosses, viz. HM x NB4D2, HM x NB7 and HM x NB18 showed good performance for yield and yield contributing traits. Datta (1984) also reported superior performance of HM x NB7 and HM x NB18. Similarly, Tayade & Jawale (1984) reported that the hybrid HM x NB18 (multivoltine x bivoltine) proved superior for most of the economic characters as compared to the pure parental lines NB7 and NB18.

ACKNOWLEDGEMENT

The author is thankful to Dr. Y.S. Nerkar, Head, Department of Genetics & Plant Breeding, and Dr. V.M. Pawar, Sr. Insect Toxicologist, Marathwada Agricultural University Parbhani for their help and co-operation for undertaking these studies as well as for the preparation of the manuscript.

Treatment <i>Traitement</i>	Total no. of eggs/laying <i>No. total d'oeufs/ponte</i>	hatching % <i>% d'éclosion</i>	Weight of 10 full-grown larvae (g) <i>Poids de 10 larves arrivées à maturité (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (en jours)</i>	Weight of silk glands (g) <i>Poids des glandes séricigènes (g)</i>	Single cocoon weight (g) <i>Poids du cocon individuel</i>
1	2	3	4	5	6	7
Hybrids						
HM x NB ₇	36.437**	2.163	-6.255**	0.435**	0.029	-0.003
HM x NB ₁₈	-18.137	2.906*	1.076**	-1.105**	-0.291**	0.011**
HM x NB ₄ D ₂	65.287**	1.189	0.591**	-0.428**	2.465**	0.017**
NB ₇ x NB ₁₈	0.187	1.034	-0.723**	0.646**	0.009	0.004
NB ₇ x NB ₄ D ₂	0.312	-0.423	-1.808**	1.054**	-0.055**	-0.016**
NB ₁₈ x NB ₄ D ₂	19.637	-4.884**	0.091	1.398**	-0.016	-0.024**
SE (Sij) ±	11.678	1.403	0.207	0.191	0.019	0.004
	23.357	2.807	0.415	0.380	0.039	0.008
SE (Sij-Sjj) ±	20.891	2.510	0.371	0.340	0.034	0.007
	41.783	5.021	0.742	0.681	0.069	0.015
Reciprocals						
NB ₇ x HM	54.700**	-1.075	-0.780**	0.640**	-0.030	0.011
NB ₁₈ x HM	98.300**	-2.985	-2.620**	1.955**	0.043	-0.014**
NB ₄ D ₂ x HM	69.300**	-2.075	0.750**	-1.175**	0.068**	0.015**
NB ₁₈ x NB ₇	-1.100	-2.145	-0.360	-0.560*	-0.006	0.006
NB ₄ D ₂ x NB ₇	32.000*	1.735	-1.650**	-1.370**	0.032	0.005
NB ₄ D ₂ x NB ₁₈	27.100	7.100**	2.810**	-0.830**	0.078**	-0.004
SE (rij) ±	14.772	1.775	0.262	0.240	0.024	0.005
	29.545	3.550	0.525	0.481	0.049	0.010

TABLE VI/TABLEAU VI

Continued/Suite page suivante

Treatment <i>Traitement</i>	Shell % <i>% de la coque</i>	Floss % <i>% de la blaze</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	Yield/10,000 larvae brushed (kg) <i>Rendement pour 10 000 larves levées (kgs)</i>
	8	9	10	11
Hybrids				
HM x NB ₇	-0.399	0.097	46.175**	0.291**
HM x NB ₁₈	1.008**	0.389	-3.550	-0.214**
HM x NB ₄ D ₂	0.365	-0.51	77.675**	0.336**
NB ₇ x NB ₁₈	-0.123	1.156*	35.725*	0.072*
NB ₇ x NB ₄ D ₂	-0.389	0.768*	-79.750**	-0.493**
NB ₁₈ x NB ₄ D ₂	-1.291	0.332	-66.775**	-0.145**
SE(Sij) ±	0.231	0.238	16.454	0.028
	0.463	0.476	32.908	0.057
SE(Sij-Sjj) ±	0.414	0.426	29.433	0.050
	0.829	0.853	58.867	0.010
Reciprocals				
NB ₇ x HM	1.145**	0.040	30.000	-0.493**
NB ₁₈ x HM	-1.445**	0.595	21.900	0.452**
NB ₄ D ₂ x HM	0.225	-0.125	-14.500	1.006**
NB ₁₈ x NB ₇	0.470	0.415	9.700	-0.208**
NB ₄ D ₂ x NB ₇	-0.080	-0.235	-50.600*	0.281**
NB ₄ D ₂ x NB ₁₈	-1.100**	-0.325	73.400**	0.768**
SE(rij) ±	0.293	0.301	20.812	0.036
	0.586	0.603	41.625	0.072

* Significant at 5 % level/Significatif à un niveau de 5 %

** Significant at 1 % level/Significatif à un niveau de 1 %

Table VI : Estimates of specific combining ability effects for economic characters in F₂ diallel

Tableau VI : Evaluations des effets de la capacité combinatoire spécifique pour les caractères économiques du diallèle F₂

REFERENCES

- BENCHAMIN K.V., JOLLY M.S., BENJAMIN D.A.I. (1983), Study on the reciprocal crosses of multivoltine x bivoltine with special reference to the use of bivoltine hybrid as a parent, National Seminar on Silk Research & Development, 10-13 March, Bangalore, Abst. 13, 13.
- DATTA R.K. (1984), Improvement of silkworm races (*Bombyx mori*L.) in India, *Sericologia*, 24, 393-415.
- GRIFFING B. (1956 a), Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system, *Aust. J. Biol. Sci.*, 9, 463-493.
- GRIFFING B. (1956 b), A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance, *Heredity*, 10, 31-50.
- GUPTA V.P., RAMANUJAM S. (1974), Genetic architecture of yield and its components in chickpea, *Indian J. Genet., Sabrao Proc.*, 34 A, 793-799.
- JOLLY M.S.*, SUBBA RAO S., KRISHNASWAMI S. (1965), Effect of genetic diversity on hybrid performance in the multivoltine Indian silkworm, *Indian J. Seric.*, 4, 4.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing, *Bull. n 2, CSR & TI, Mysore*.
- KRISHNASWAMI S., JOLLY M.S., SUBBA RAO S. (1964), Diallel analysis of quantitative characters in multivoltine races, *Indian J. Genet.*, 24, 213-222.
- NAGARAJ J., BASAVARAJ H.K., IYENGAR M.N.S., KSHAMARANI, NASEEMA BEGUM (1983), Combining ability studies in the bivoltine strains of silkworm *Bombyx mori*, National Seminar on Silk Research & Development, 10-13 March, Bangalore, Abst. 65, 67.
- PETKOV N.*, YOLOV A., YANKOV A. (1977), Effect of reciprocal crossing on *Bombyx mori* silk productivity, *Genet. Sel.*, 10, 70-76.
- SENGUPTA K., YUSUF M.R., GROVER S.P. (1974), Hybrid vigour and genetic analysis of quantitative traits in silkworm, *Indian J. Genet., Sabrao*, 34 A, 249-256.
- SINGH K.B. (1971), Heterosis breeding in pulse crops, *proc. V, All Indian Pulse Conference, Hissar*.
- SUBBA RAO G. (1983), Line x tester analysis of some characters in bivoltine silkworms, National Seminar on Silk Research & Development, 10-13 March, Bangalore, Abst. 15, 15.
- TAYADE D.S., JAWALE M.D. (1984), Studies on the comparative performance of silkworm races against different varieties of mulberry under Marathwada conditions, *Sericologia*, 24, 361-364.
- * Originals not seen.

ARCHITECTURE GENETIQUE DES CARACTERISTIQUES ECONOMIQUES CHEZ CERTAINES SOUCHES DE VERS A SOIE DU MURIER, *BOMBYX MORI* L.

I. ANALYSE DE LA CAPACITE COMBINATOIRE

D.S. TAYADE

Sericultural Research Unit, Marathwada Agricultural University, Parbhani 431402 Inde

*Cet article traite de l'analyse de la capacité combinatoire pour différentes caractéristiques économiques du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L. dans les conditions du Marathwada. L'analyse de la capacité combinatoire dans les générations F_1 et F_2 a révélé une variance du GCA (capacité combinatoire générale) très significative pour tous les caractères.*

Les parents NB7 et NB18 donnent une GCA élevée pour le rendement et se sont également révélés être de bons recombinaisons pour la durée de la période larvaire, le poids des glandes, la longueur du fil. Le parent NB4D2 donne des effets GCA importants pour la durée de la période larvaire, le poids des glandes, le poids et le pourcentage des coques. Le parent multivoltin, HM donne des effets de la GCA significatifs et négatifs pour la plupart des caractères mais il a été un bon recombinaison pour la plupart d'entre eux. On a obtenu des résultats significatifs et positifs de SCA (capacité combinatoire spécifique) pour la plupart des caractères économiques étudiés dans les croisements HM x NB4D2, HM x NB7 et HM x NB18. De façon analogue, ces croisements donnent des effets SCA significatifs et négatifs pour la période larvaire et le pourcentage de blaze qui sont des caractéristiques intéressantes. Pour les hybrides bivoltins NB7 x NB18, NB18 x NB4D2, on observe des résultats SCA importants pour le poids des glandes, le poids d'un cocon, la longueur du filament et le rendement en cocons. Il est possible d'isoler des croisements de multivoltin x bivoltin où des résultats SCA constants et importants ont été observés pour la plupart des caractères. Les résultats obtenus avec les générations F_2 furent inférieurs à ceux de la génération F_1 pour tous les caractères sauf pour le nombre total d'oeufs par ponte. Un taux de fécondité élevé a été observé pour la génération F_2 dans tous les croisements. Chez les croisements réciproques, bivoltin x multivoltin, on a observé des résultats SCA importants dans la plupart des croisements. Une importance plus grande de l'effet maternel a été constatée pour le rendement.

INTRODUCTION

Le succès du programme d'élevage dépend de la variation génétique dans la collection de lignées disponible et de la connaissance de l'architecture génétique des caractéristiques économiques. On connaît peu de chose sur le contrôle génétique des différentes caractéristiques biométriques des races de vers à soie utilisées. En Inde la capacité combinatoire des vers à soie a seulement été étudiée par Sengupta et coll.(1974) et Subba Rao (1983). Krishnaswami et coll.(1964) ont effectué une analyse par croisement diallétique des caractères quantitatifs pour les races polyvoltines de vers à soie. Cependant, une analyse plus poussée du ver à soie, *Bombyx mori* L. a été entreprise dans d'autres pays.

L'analyse de la capacité combinatoire est utile pour tester l'indépendance des effets génotypiques par rapport aux effets dus à l'environnement ; elle fournit des informations sur les effets cytoplasmiques, évalue les effets de la capacité combinatoire spécifique et générale, le type d'effet

additif ou dominant des gènes et les différentes interactions non alléliques. Cette recherche a été entreprise pour analyser les bases génétiques de quelques caractères économiques importants du ver à soie dans les conditions du Marathwada.

MATERIELS ET METHODES

Des vers à soie *Bombyx mori* L. provenant de 4 parents génétiquement différents et très prometteurs, et fournis par le Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore forment le matériel expérimental de cette étude. Il s'agit de :

1) Hosa Mysore (HM) - une lignée polyvoltine dérivée de A4 e x Pure Mysore, les larves ayant un tégument uni et un masque clair, les cocons étant jaunes et oblongues ou fusiformes ;

2) NB7 - dérivé de l'hybride japonais Kinshu Showa, bivoltin dont la larve est blanche et unie, les cocons blancs de forme ovale.

3) NB18 - une lignée bivoltine provenant d'un polyhybride (Kokuko-Seihaku) x (N₁₂₄ x C₁₂₄), la larve étant blanche unie, les cocons blancs en forme d'haltère et allongée.

4) NB4D2 - une lignée bivoltine provenant du polyhybride (Kokuko x Seihaku) x (N₁₂₄ x C₁₂₄), dont les larves sont unies et blanches et les cocons, blancs, plus courts et cintrés.

Ces 4 races ont été maintenues dans la collection de cette unité de recherche par sélection. Ces stocks parentaux ont été élevés en laboratoire en utilisant la technologie proposée par Krishnaswami (1978) et utilisés par la suite pour réaliser les hybrides F₁.

Tous les croisements possibles et leurs réciproques ont été tentés avec ces 4 parents. Donc, 12 croisements avec 4 parents ont été étudiés pour l'architecture génétique. Cinq pontes saines choisies au hasard pour chaque combinaison ont été mises de côté. La technique de Krishnaswami (1978) a été suivie pour l'élevage de ces 16 lots. Les vers ont été nourris de feuilles de mûrier hâchées de la variété Kanva2. Pendant le stade larvaire, un élevage de masse a été réalisé. Les larves, après la seconde mue, ont été réparties en 5 lots, Chaque réplicat comptant 100 vers.

Les cocons obtenus de la génération F₁ de chaque croisement et des lignées parentales ont été conservés après avoir relevé les observations pour développer la population F₂. Le croisement diallétique des 12 populations F₂ a été obtenu par l'interaccouplement des adultes des hybrides F₁ respectifs. L'expérience concernant les populations F₂ et quatre parents a été effectuée par la méthode des blocs au hasard avec 5 répétitions, chacune comportant 100 vers. La méthode d'élevage a été la même que celle suivie pour l'élevage F₁. L'élevage F₁ a commencé le 13/09/1983 tandis que l'élevage F₂ a commencé le 3/11/1983. Les renseignements relevés ont été utilisés pour des analyses statistiques ultérieures. Pour l'analyse de la capacité combinatoire des tables diallétiques ont été enregistrées sur ordinateur pour les parents, leurs hybrides et les croisements réciproques. Dans ce tableau, chaque valeur est la moyenne des répétitions. Les résultats ont d'abord été analysés pour tester les différences génotypiques significatives chez les parents et les progénitures F₁ et F₂.

L'analyse de la capacité combinatoire a été effectuée selon Griffing (1956), méthode 1. La méthode 1 a été applicable car les parents, leur F₁ et les réciproques ont été inclus.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse de la capacité combinatoire pour différentes caractéristiques économiques à savoir : le nombre d'œufs par ponte, le pourcentage d'éclosion, le poids de 10 larves adultes, la durée de la période larvaire, le poids des glandes séricigènes, le poids du cocon et le poids de la coque, la quantité de soie, le pourcentage de bourres de soie, la longueur du filament et le rendement des cocons des générations F₁ et F₂ sont présentés respectivement dans les tableaux I et II. Dans les 2 générations les variances GCA et SCA ont été très significativement différentes pour tous les caractères sauf pour l'effet GCA concernant le poids des 10 larves adultes de la génération F₁. Les variances dues aux croisements réciproques ont été également très significativement différentes sauf pour le pourcentage de bourre de soie de la génération F₂. En général le rapport variance GCA/variance SCA a été supérieur à l'unité pour la majorité des caractères des 2 générations. La proportion a été supérieure à l'unité pour 9 caractères sur 10 dans la génération F₂ contre 6 caractères sur 11 pour la génération F₁. Ceci indique un changement de la variance SCA du plus haut au plus bas dans la génération F₂. Le

rapport maximum variance GCA/variance SCA a été observé pour les caractères suivants : le pourcentage de coque suivi par le pourcentage d'éclosions, la longueur du filament et le nombre total d'oeufs par ponte dans la génération F₁. Dans la génération F₂, la proportion a été plus importante pour la longueur du filament suivi par le poids du cocon, le nombre total d'oeufs par ponte, le rendement pour 10 000 larves levées, le poids de la coque et la période larvaire. Cela indique l'action additive de gènes pour le contrôle de ces caractères. Une plus grande importance de l'action additive en F₂ démontre qu'il serait possible de sélectionner des caractéristiques souhaitées en F₂ et de développer des races supérieures.

De plus, les analyses de variance F₁ et F₂ ont montré que la tendance de la signification des variances GCA et SCA est constante. Cependant, l'importance varie d'une génération à l'autre. Gupta et Ramanujan (1974) ont mentionné des différences dans les évaluations de SCA pour les récoltes des générations F₁ et F₂. La différence pourrait être due à la ségrégation et à la recombinaison en F₂ et à l'interaction génotype x environnement et à la faible héritabilité du caractère. Les estimations de la capacité combinatoire générale ont été faites dans les générations F₁ et F₂ et sont présentées respectivement dans les tableaux III et IV. De la même façon, les estimations de la capacité combinatoire spécifique et les résultats réciproques en F₁ et F₂ sont présentées respectivement dans les tableaux V et VI pour les caractéristiques économiques. Les résultats de la capacité combinatoire générale et spécifique et les effets réciproques sont présentés ci-dessous :

Nombre d'oeufs par ponte :

En F₁, des effets GCA très significatifs et positifs chez le parent HM. De même, en F₂, HM et NB7 donnent des effets GCA significatifs et positifs. Le reste des parents montre des effets GCA soit négatifs soit faibles. D'après les résultats, on peut conclure que le croisement HM x NB7 semble être meilleur pour l'augmentation du nombre total d'oeufs par ponte. Les estimations de la capacité combinatoire spécifique ont révélé que les effets SCA étaient soit faibles soit négatifs pour la génération F₁ tandis que pour F₂ les combinaisons HM x NB7 et HM x NB4D2 donnent des effets significatifs et positifs. Ces croisements comprennent les recombinants généraux fort x fort et fort x faible. Benhamin et coll., (1983) ont rapporté que la race bivoltine pouvait être utilisée comme parent mâle avec la race polyvoltine pour la préparation de graines commerciales et que la performance enregistrée était équivalente à celles des races pures bivoltines.

Les effets des croisements réciproques ont été positifs et significatifs sur 4 des 6 croisements dans les générations F₁ et F₂. La tendance des effets SCA des générations F₁ et F₂ a clairement révélé les effets substantiels des croisements réciproques chez *Bombyx mori*. Les effets SCA croissants dans les croisements réciproques peuvent être attribués à la contribution cytoplasmique des parents concernés.

Pourcentage d'éclosion :

Des effets GCA très significatifs et positifs ont été observés dans HM et NB7 dans les générations F₁ et F₂ respectivement. Cependant le parent NB7 a montré un effet GCA positif seulement dans la génération F₁. Le reste des parents donne des effets GCA significatifs et négatifs.

Des effets GCA positifs et significatifs ont été observés chez les croisements HM x NB4D2 et NB7 x NB4D2 dans la génération F₁ et chez HM x NB18 dans la génération F₂. Les parents concernés étaient les recombinants généraux fort x fort et fort x faible. Les effets réciproques ont été positifs et significatifs pour 4 des 6 croisements de la génération F₁ et seulement pour un croisement en F₂. La diminution de l'effet réciproque de la génération F₁ à la génération F₂ peut être attribuée à la diminution de l'hétérozygotie.

Poids de 10 larves en pleine croissance :

Dans la génération F₂, les parents NB7 et NB18 donnent des effets GCA significatifs et positifs.

Le croisement HM x NB4D2 des générations F₁ et F₂ et le croisement HM x NB18 de la génération F₂ ont montré des effets SCA positifs et significatifs. Les effets des réciproques de la génération F₁

sont plus prononcés qu'à la génération F₂. La contribution maternelle positive et significative a été notée dans deux croisements des générations F₁ et F₂.

Période larvaire :

Des effets GCA significatifs et négatifs ont été enregistrés chez HM et NB₇ dans les deux générations F₁ et F₂. Si les parents ayant des effets GCA négatifs ont été impliqués dans le croisement, ils ont des chances de donner des individus ségrégants qui peuvent dépasser la catégorie des meilleurs parents.

Des effets SCA significatifs et négatifs ont été observés chez deux croisements dans les générations F₁ et F₂. Les parents utilisés dans ces croisements avaient soit des effets GCA négatifs ou alors l'un des parents avait des effets GCA positifs. Nagaraj et coll., (1983) ont également mentionné que lorsque deux parents ayant une bonne capacité combinatoire sont croisés, ils engendrent de bons hybrides avec des effets SCA considérables. Dans la majorité des études, il a été mentionné que les effets GCA et SCA montrent une bonne association avec les performances *per se* des parents et des hybrides respectivement.

Poids des glandes séricigènes :

Chez les parents NB₇ et NB₄D₂, on a enregistré un effet GCA positif et significatif. Sur 6 croisements, 4 ont montré des effets SCA significatifs et positifs. Les parents impliqués dans les croisements étaient des recombinants généraux positif x positif, positif x négatif ou négatif x négatif. Les effets réciproques sont significatifs chez NB₁₈ x HM et NB₄D₂ x NB₁₈.

Poids du cocon individuel :

Dans la génération F₁, le parent NB₇ et, dans la génération F₂, les parents NB₁₈ et NB₄D₂ ont montré des effets GCA positifs et significatifs. Les parents ayant des effets GCA importants avaient également des performances moyennes élevées dans les générations F₁ et F₂.

Dans la génération F₁, des effets SCA positifs et significatifs ont été observés chez 5 croisements. L'effet SCA maximum a été observé chez HM x NB₄D₂ suivi par NB₇ x NB₄D₂ et HM x NB₁₈. Cependant, dans la génération F₂, seul HM x NB₄D₂ a montré des effets SCA significatifs. Le croisement HM x NB₄D₂ a donné des performances moyennes supérieures dans les 2 générations, même si les effets GCA de la génération F₁ sont négatifs et faibles. L'augmentation de la performance de ce croisement particulier peut être attribuée à l'action d'un gène dominant concernant ce caractère.

Dans la génération F₁, les effets des croisements réciproques étaient plus apparents que dans la génération F₂. Sur 6 croisements, 5 ont montré des effets SCA positifs et significatifs. Cependant, dans la génération F₂, seuls 2 croisements ont eu des effets positifs et significatifs.

Poids de la coque :

Des effets GCA positifs et significatifs ont été observés chez le parent NB₇ dans les générations F₁ et F₂. De même, les parents NB₄D₂ et NB₁₈ ont donné des effets GCA positifs et significatifs dans les générations F₁ et F₂ respectivement. Dans la génération F₁, la tendance des effets SCA était la même que pour le poids d'un cocon. Cinq croisements ont montré des effets SCA positifs et significatifs. Dans la population F₂, les croisements HM x NB₄D₂ et HM x NB₁₈ ont montré des effets SCA positifs et significatifs. Les parents concernés dans ces combinaisons avaient des effets GCA soit positifs soit négatifs.

Les 6 croisements réciproques ont affiché des effets SCA positifs et significatifs sauf pour le croisement NB₁₈ x NB₇. Dans la génération F₂, 4 croisements ont montré des effets SCA positifs et deux d'entre eux (NB₇ x HM et NB₄D₂ x HM) étaient significatifs. Nagaraj et coll., (1983) ont également mentionné l'effet de la capacité combinatoire générale significatif chez des souches bivoltines et aussi des effets SCA significatifs pour les différents caractères économiques. Ils ont également remarqué que les parents ayant de bons effets GCA pouvaient former un hybride ayant un

meilleur rendement avec des effets SCA importants. Dans les études présentes les souches bivoltines ont également eu de meilleurs effets sur la capacité combinatoire générale. Petkov et coll. (1977) ont observé l'effet cytoplasmique pour les caractères du cocon et le poids de la soie lors de l'étude de 4 croisements réciproques.

Richesse soyeuse :

Le parent NB7 a montré des effets GCA positifs et significatifs dans les générations F₁ et F₂. L'effet GCA le plus important est associé avec la performance moyenne *per se*. Le parent NB4D2 donne les mêmes résultats pour la génération F₁. Les effets SCA positifs et significatifs ont été observés dans les croisements HM x NB4D2 et HM x NB18 dans les générations F₁ et F₂ respectivement. Des effets SCA positifs ont été également observés chez les croisements NB7 x NB4D2, HM x NB7 en F₁ et HM x NB4D2 et NB7 x NB18 à la génération F₂. Les parents impliqués dans ces croisements étaient les recombinants généraux faible x fort.

Aucun des croisements réciproques n'a montré d'effets SCA positifs et significatifs chez la génération F₁. Cependant, le croisement NB7 x HM a été positif et significatif seulement à la génération F₂. Nagaraj et coll. (1983) ont observé des effets SCA et GCA significatifs dans les nouvelles lignées bivoltines ce qui indique l'importance de l'action de gènes de type à la fois dominante et additive.

Pourcentage de blaze :

Les parents NB18 et NB7 montrent des effets GCA significatifs et négatifs dans les générations F₁ et F₂ respectivement. Le polyvoltin HM a montré des effets GCA significatifs et positifs pour les deux générations. Il est connu que le fort pourcentage de blaze est associé aux races polyvoltines de vers à soie. Les effets SCA significatifs et négatifs ont été révélés par le croisement HM x NB7 dans la génération F₁. NB18 x NB4D2 et HM x NB4D2 ont montré des effets SCA négatifs. Dans la génération F₂ des effets SCA positifs et significatifs ont été observés chez les croisements NB7 x NB18 et NB7 x NB4D2. Les parents impliqués dans ces croisements ont montré des effets GCA significatifs et négatifs.

Dans les croisements réciproques, les combinaisons NB7 x HM et NB4D2 x HM ont donné des effets SCA significatifs et positifs. Il se peut que cela soit dû à la participation du parent HM qui a montré des effets GCA significatifs et positifs. Petkov et coll. (1977) ont établi qu'une blaze importante était obtenue dans le cas d'hybrides lorsque le parent femelle a des valeurs plus fortes pour ce caractère.

Longueur du filament :

Des effets GCA hautement significatifs et positifs ont été observés chez le parent NB7 dans les deux générations F₁ et F₂. Il avait la plus importante moyenne *per se*.

Les effets SCA significatifs et positifs ont été observés chez les croisements HM x NB4D2 et NB7 x NB18 dans les générations F₁ et F₂. De plus, HM x NB7 était également significatif dans la génération F₂. Les parents concernés avaient des effets GCA soit négatifs soit positifs.

Chez les croisements réciproques, six ont affiché des effets SCA positifs à la génération F₁. Cependant, à la génération F₂, trois croisements ont montré des effets SCA positifs, les autres des effets SCA négatifs. Le parent NB7 ayant des effets GCA élevés peut être exploité dans le programme d'élevage. Ses combinaisons avec NB18 étaient meilleures dans les deux générations. L'effet additif important de gènes chez les parents peut entraîner l'apparition de ségréants supérieurs dans les générations suivantes.

Singh (1971) a mentionné que les croisements ayant de bonnes performances peuvent entraîner l'apparition de ségréants transgressifs dans la génération suivante.

Rendement pour 10 000 larves levées :

Les parents bivoltins NB7 et NB18 ont montré des effets GCA significatifs et positifs dans les générations F₁ et F₂. L'autre parent bivoltin NB4D2 donne un résultat également significatif dans la génération F₂. Le polyvoltin HM a montré des effets GCA significatifs et négatifs.

Tous les croisements ont montré des effets SCA significatifs et positifs sauf le croisement NB18 x NB4D2. HM x NB4D2 a montré les effets SCA les plus importants suivi par HM x NB7 et HM x NB18 dans les deux générations. Les parents utilisés dans ces croisements ont des effets GCA négatifs et positifs. Les trois croisements restants ont montré des effets SCA significatifs et négatifs dans la génération F₂. Cela peut être attribué à la ségrégation dans la population F₂. En F₁, les effets positifs ont été observés dans tous les croisements réciproques ; ils sont très significatifs sauf pour NB18 x NB7. De même, la plupart des croisements ont montré des effets SCA positifs et significatifs dans la génération F₂. Les effets maternels sont plus importants pour le rendement. Petkov et coll. (1977) ont également observé un effet cytoplasmique chez les croisements réciproques pour les caractères économiques.

Il apparaît, d'après les effets GCA chez les parents pour différents caractères, que NB7 est en tête suivi par NB18. La souche HM a le maximum d'effets GCA négatifs. La tendance des effets GCA dans les générations F₁ et F₂ indique que la plupart des caractères sont associés au rendement.

Pour la plupart des caractères économiques la souche polyvoltine HM s'est révélée être un bon combinant spécifique. La haute performance et les effets SCA sont attribués à la diversité des souches utilisées (Jolly et coll., 1965 ; Krishnaswami et coll., 1964 ; et Sengupta et coll. 1974).

Les croisements polyvoltin x bivoltin c'est-à-dire, HM x NB4D2, HM x NB7 et HM x NB18 ont donné une bonne performance pour le rendement et les caractéristiques contribuant au rendement. Datta (1984) a également mentionné la performance supérieure de HM x NB7 et HM x NB18.

De même, Tayade et Jawale (1984) ont indiqué que l'hybride HM x NB18 (polyvoltin x bivoltin) a prouvé sa supériorité pour la plupart des caractères économiques par comparaison avec les lignées parentales pure NB7 et NB18.

BIOCOENOLOGY AND COMMUNITY STRUCTURE OF PEST AND PREDATORS IN TROPICAL TASAR REGION, RANCHI, INDIA

S.L. DHAR, K.C. MONDAL, R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, S.S. SINHA and K. SENGUPTA

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

Major predators like Canthecona furcellata, Sycaeus collaris, Xanthopimpla pedator, Polistes herbraeus were observed to be destructive to tasar silkworm up to 10-20 %. Blepharipa zebina being the major parasite of tasar silkworm recorded peak in November-December (2nd and 3rd crop). The growth and preponderance of infestation were related with the fluctuations in microclimatic and abiotic factors.

Keywords: Pest, predators, tasar silkworm, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, *Antheraea mylitta* D.

INTRODUCTION

The primary tasar food plants viz., *Terminalia arjuna* (A&W) and *Terminalia tomentosa* (A&W) of tasar silkworm (*A. mylitta* D.) exist throughout the tropical humid belts of the Central and Southern plateau of India. Earlier the tasar food plants were not extensively cultivated by the rearers. Natural tasar food plants were used for the silkworm rearing. But since the adaptation of scientific farm technique to the intensive cultivation of the food plants in huge acreage in monoculture, the food plants are subjected to various kinds of artificial cultural practices resulting in an altered physiological growth. Hence natural resistance against insects attack has been reduced considerably in cultured plants than the natural one's in the forest. Thereby the incidence of pest attack has been increased in the plants and silkworm.

It is estimated that in conventional rearing about 70-80 % of the crop is lost due to these hazards and finally the rearer is hardly able to harvest 20 to 30 % of the crop (Mandal, 1986). Being wild in nature, the rearing *in toto* is subjected to wide range of enemies. In India, this study is a neglected one since it remained virtually unexplored for a long time. Therefore, the present investigation on qualitative composition, population size, distribution pattern and relation with the abiotic factors becomes all the more important. Further the study will throw light in providing an over all conception regarding the role of pest and predators in the tropical tasar ecosystem and will lead to the development of tasar industry.

The study area :

The study area, Field Laboratory, Nagri, falls in the district of Ranchi (latitude 23°24' N and longitude 85°18' E), situated in the tropical region of South Eastern part of India (altitude 708 m, AMSL). The area is under economic plantation of *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa*, covering approximately 24.66 hectares.

PEST AND PREDATORS OF TASAR HOST PLANT

Order	Food plant	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN
Ordre	Plante hôte	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN
Lepidoptera	a	169±30	196±26	182±18	174±32	149±12	96±8
Lépidoptères	b	212±26	176±20	160±21	175±18	138±11	106±14
Coleoptera	a	46±5	23±5	21±5	23±14	10±3	137±5
Coléoptères	b	30±10	12±4	15±3	11±2	5±2	88±3
Orthoptera	a	21±11	6±2	5±2	3±1	3±1	5±1
Orthoptères	b	16±4	11±3	9±2	7±1	2±1	3±2
Hemiptera	a	120±12	96±12	67±14	46±8	31±4	23±5
Hémiptères	b	90±7	52±10	42±8	24±9	29±5	21±4
Dictyoptera	a	22±4	18±9	25±7	93±12	66±6	67±2
Dyctyoptères	b	22±5	33±7	40±6	103±21	92±9	55±4
Arachnida	a	95±13	60±18	68±10	102±12	97±2	82±6
Arachnides	b	89±10	75±10	71±6	91±6	98±3	67±8
Total collection	a	473	399	368	441	356	410
Collection totale	b	459	349	337	411	364	340

Table I. / Tableau I.

(to be continued/ suite p. suivante)

Order	Food plant	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
Ordre	Plante hôte	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
Lepidoptera	a	143±4	311±12	235±17	215±8	160±4	229±7
Lépidoptères	b	108±16	238±32	242±12	217±3	166±7	304±19
Coleoptera	a	1222±32	1143±17	687±9	277±10	48±7	69±4
Coléoptères	b	901±10	1063±21	641±11	218±3	35±2	74±2
Orthoptera	a	30±7	38±16	42±3	36±3	23±1	15±1
Orthoptères	b	40±6	71±19	52±2	47±2	14±2	25±3
Hemiptera	a	37±3	83±3	166±7	153±13	79±4	195±4
Hémiptères	b	54±2	71±2	161±3	138±14	122±3	148±5
Dictyoptera	a	16±2	16±1	32±2	36±2	34±2	31±1
Dictyoptères	b	15±1	24±3	45±5	31±3	28±9	20±8
Arachnida	a	72±4	93±9	183±3	160±9	100±7	142±12
Arachnides	b	73±2	69±7	83±9	142±3	121±2	141±6
Total collection	a	1520	1668	1345	877	444	681
Collection totale	b	1191	1536	1224	793	486	712

Table I. Monthly population fluctuation of pest and predators related to *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) during the year 1985.

Tableau I. Fluctuation de la population des parasites et prédateurs liés à *T. arjuna* et *T. tomentosa* selon les mois de l'année 1985.

PEST AND PREDATORS OF TASAR HOST PLANT

Order	Food plant	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN
<i>Ordre</i>	<i>Plante hôte</i>	<i>JAN</i>	<i>FEV</i>	<i>MAR</i>	<i>AVR</i>	<i>MAI</i>	<i>JUN</i>
Lepidoptera	a	153±14	130±17	142±11	100±7	159±21	69±3
<i>Lépidoptères</i>	b	165±12	214±6	204±19	109±9	133±22	83±7
Coleoptera	a	90±13	250±20	275±19	18±3	45±5	212±8
<i>Coléoptères</i>	b	81±3	180±13	123±20	19±2	27±3	177±4
Orthoptera	a	15±2	16±4	23±4	01±1	5±2	5±1
<i>Orthoptères</i>	b	11±2	10±2	13±1	00±00	3±3	5±2
Hemiptera	a	66±4	112±14	107±9	16±2	14±2	16±4
<i>Hémiptères</i>	b	86±3	105±7	90±3	7±3	12±4	20±3
Dictyoptera	a	19±2	19±8	15±2	51±7	60±6	34±2
<i>Dyctyoptères</i>	b	6±1	18±2	13±4	58±8	76±3	43±4
Arachnida	a	90±6	54±3	143±8	53±3	76±7	65±4
<i>Arachnides</i>	b	80±7	148±8	130±17	50±5	84±6	52±7
Total collection	a	433	675	705	239	359	401
<i>Collection totale</i>	b	429	681	573	243	333	380

Table II. / *Tableau II.*

(to be continued/ *suite p. suivante*)

Order	Food plant	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
<i>Ordre</i>	<i>Plante hôte</i>	<i>JUL</i>	<i>AOU</i>	<i>SEP</i>	<i>OCT</i>	<i>NOV</i>	<i>DEC</i>
Lepidoptera	a	144±6	272±14	360±19	393±31	337±25	280±20
<i>Lépidoptères</i>	b	120±7	251±10	283±15	333±30	286±21	256±19
Coleoptera	a	838±30	482±12	112±6	63±5	69±5	58±2
<i>Coléoptères</i>	b	781±22	452±9	83±3	72±4	62±3	50±1
Orthoptera	a	15±3	13±2	21±1	36±3	12±4	31±2
<i>Orthoptères</i>	b	17±2	15±2	40±2	46±2	72±6	16±1
Hemiptera	a	37±6	37±9	168±4	143±4	151±9	98±3
<i>Hémiptères</i>	b	62±9	42±3	148±3	163±9	135±10	110±2
Dictyoptera	a	00±00	3±1	16±2	43±4	22±3	34±1
<i>Dictyoptères</i>	b	6±1	4±1	28±1	31±5	32±2	27±2
Arachnida	a	53±1	30±4	102±9	45±5	39±2	52±4
<i>Arachnides</i>	b	47±4	31±4	128±10	40±1	58±3	53±6
Total collection	a	1087	837	779	723	630	553
<i>Collection totale</i>	b	1033	795	710	685	645	512

Table II. (continued)

Tableau II. (suite)

Table II. Monthly population fluctuation of pest and predators related to *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) during the year 1986.

Tableau II. Fluctuation de la population des parasites et prédateurs de T. arjuna et T. tomentosa selon les mois de l'année 1986.

MATERIALS AND METHODS

The survey was conducted on the basis of statistical design considering 3.09 and 2.70 hectares areas harbouring *Terminalia arjuna* and *T. tomentosa* having randomly selected 3191 and 5728 trees of the respective varieties. From each plot 90 plants were studied randomly. The observation was recorded biweekly from each site throughout the study. Direct counting method was applied. Samples were collected, preserved and identified. Seasonal population was based on the counts of early stages as well as adults on silkworm and the food plants. The meteorological data on temperature, relative humidity and rainfall was recorded daily.

RESULTS

Monthly fluctuations in the density of pest and predators :

Tables I and II and Fig. 1 show the average density with standard deviation of pest and predators inhabiting *T. arjuna* and *T. tomentosa* during the two years of sampling (1985, 1986).

The highest population (8982 individuals/3191 plants) was recorded on *T. arjuna* during the year 1985, followed by lowest number of 7019 individuals/5728 plants on *T. tomentosa* in 1986. Maximum population size of pests and predators was observed on *T. tomentosa*, 1985 (3031.04 individuals/hectare) and the minimum (2401.62 individuals/hectare) on *T. arjuna* in 1986. But the overall density of pest and predators was comparatively higher (2.81 individuals/plant) on *T. arjuna*, 1985 and the lowest (1.23 individuals/plant) on *T. tomentosa* during the year 1986 (Table III).

The community level showed the peak in August 1985 recording the number as average of 1668 individual on *T. arjuna* followed by 239 individual in April, 1986 on the same food plant. The density fluctuated between 333 to 1536 individual on *T. tomentosa* during the study.

In lepidoptera the maximum number of pests attacked the *T. arjuna* (393 ± 31 individual) was recorded in October, 1986 followed by 106 ± 14 individual on *T. tomentosa*, the month of June 1985, thereby showing peak and trough in the respective years. Coleopteran insects were dominant throughout the study on both the stands. It showed the bimodal growth curve reflecting the highest values of 1222 ± 32 (July) and 1143 ± 17 (August) on *T. arjuna* in 1985 while as subpeak (1063 ± 21) was recorded on *T. tomentosa* in the same year. The lowest population (5 ± 2) was observed on *T. tomentosa* in May, 1985. In Orthoptera, the population density was not so predominant during the study. The density varied from 1 ± 1 (*T. arjuna*) to 71 ± 19 (*T. tomentosa*) during the year, 1985. It was interesting to note that the population size of insects was reduced to zero in April, 1986 on *T. tomentosa*. Hemipteran comprising of *Leptocoris*, *Dysdercus* and *Cercopa* spp. attained the peaks in December, 1985 and September, 1986 with the respective records of 195 ± 4 and 168 ± 4 on *T. arjuna*. The lowest trend (7 ± 3) was recorded on *T. tomentosa* during, April, 1986. In Diptera the population density was maintained (22 ± 4) during the month of January, 1985 on both the plants. The maximum number was 1.03 ± 21 on *T. tomentosa* in April, 1985 while to that no insect of this order was recorded during the month of July, 1986 on *T. arjuna*. In Arachnida, the insects registered its peak (183 ± 3) on *T. arjuna*, 1985 against the low population of 30 ± 4 on the same food plant in 1986.

Relative density :

The high faunal growth was the result of interaction of different constituent groups. Thus the monthly variations or the peaks and troughs recorded for density in the pest and predator groups did not always coincided with high or low values obtained for the relative density (R.D.). The results are in tables (IV + V) and fig. (2). Lepidopteran insects showed highest percentage infestation in October, 1986 (54.36% RD) on *T. arjuna* against the minimum recorded in July, 1985 (9.07% RD). Coleoptera recorded maximum percentage (80.39%) in July 1985 and this coincided with the minimum of 2.67% (*T. tomentosa*) during April, 1985. In 1986 the percentage varied between 7.53 - 77.09 and 7.81 - 75.61 on *T. tomentosa*, respectively. In Orthoptera the infestation was not so predominant. The characteristic feature was greater difference showing zero RD (April) and the highest value of 6.72% on *T. tomentosa* during 1986 during the study. In Hemiptera the note worth of infestation was the

Year <i>Année</i>	Food plant <i>Plante hôte</i>	No. of plants studied <i>Nbre de plants observés</i>	Area under population <i>Surface observée (ha)</i>	Faunal population (No) <i>Population animale (Nbre)</i>	Faunal population/ ha <i>Population animale par ha</i>	Av. Population/ plant <i>Population moyenne/plant</i>
1985	<i>T. arjuna</i>	3191	3.09	8982	2906.79	2.81
1985	<i>T. tomentosa</i>	5728	2.706	8202	3031.04	1.43
1986	<i>T. arjuna</i>	3191	3.09	7421	2401.62	2.32
1986	<i>T. tomentosa</i>	5728	2.706	7019	2593.86	1.23

Table III. Comparative study of pest and predators on different food plants, 1985 and 1986.

Tableau III. Etude comparative des parasites et prédateurs sur les différentes plantes hôtes en 1985 et 1986.

Order	Food Plant	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
Ordre	Plante Hôte	JANV	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
Lepidoptera/	(a)	35.72	49.12	49.45	39.45	41.85	23.41	9.40	18.65	17.47	24.52	36.03	33.62
Lépidoptères	(b)	46.18	50.43	47.48	42.57	37.91	31.17	9.07	15.49	19.77	27.36	34.15	42.6
Colcoptera/	(a)	9.72	5.76	5.71	5.21	2.81	33.41	80.39	68.52	51.07	31.58	10.81	10.13
Coléoptères	(b)	6.53	3.44	4.45	2.67	1.37	25.88	75.65	69.20	52.36	27.49	7.20	10.39
orthoptera/	(a)	4.4	1.50	1.36	0.68	0.84	1.2	1.97	2.28	3.12	4.10	5.18	2.20
Orthoptères	(b)	3.4	3.15	2.67	1.70	0.54	0.88	3.36	4.62	4.24	5.93	2.88	3.51
Hemiptera/	(a)	25.3	24.06	18.20	10.43	8.70	5.60	2.43	0.40	12.34	17.45	17.79	28.63
Hémiptères	(b)	19.6	14.90	12.46	5.83	7.96	6.17	4.53	4.62	13.15	17.40	25.10	20.78
Dictyoptera/	(a)	4.68	4.51	6.79	21.08	18.53	16.34	1.5	0.95	2.37	4.10	1.65	4.55
Dictyoptères	(b)	4.79	9.46	11.87	25.06	25.26	16.17	1.26	1.56	3.67	3.91	5.76	2.80
Arachnida/	(a)	20.08	50.04	18.48	23.12	27.24	20.00	4.73	5.75	13.60	18.24	22.52	20.85
Arachnides	(b)	19.38	21.49	21.07	22.14	26.92	19.70	6.13	4.49	6.78	17.91	24.89	19.80
C. D. at 5%		8.69	12.26	10.20	9.13	9.41	7.01	18.13	15.83	10.93	6.34	7.35	8.38
I. C de 5%													

Table IV : Relative density (%) of pest and predators on primary tasar food plants *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) during the year 1985.

Tableau IV : Densité relative (%) des parasites et prédateurs sur les plantes hôtes du tussah, *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) en 1985.

Order	Food Plant	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
Ordre	Plante hôte	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
Lepidoptera/	(a)	35.33	19.08	20.14	41.84	44.29	17.20	13.24	32.49	46.21	54.36	53.49	50.63
Lépidoptères	(b)	38.46	31.70	35.60	44.85	39.94	21.84	11.61	31.57	39.86	48.61	44.34	50.0
Coloptera/	(a)	20.78	36.71	39.00	7.53	12.53	52.86	77.09	57.58	14.37	8.71	10.95	10.48
Coléoptères	(b)	18.88	26.66	21.46	7.81	8.11	46.57	75.60	56.85	11.69	10.51	9.61	9.77
Orthoptera/	(a)	3.50	2.34	3.26	0.41	1.39	1.24	1.37	1.55	2.70	4.98	1.90	5.60
Orthoptères	(b)	2.56	1.48	2.26	0.00	0.90	1.31	1.64	1.88	5.63	6.72	11.16	3.13
Hemiptera/	(a)	15.24	16.59	15.17	6.69	3.90	4.00	3.40	4.42	21.56	19.78	23.97	17.72
Hémiptères	(b)	20.04	15.55	15.70	2.88	3.60	5.26	6.00	5.28	20.85	23.80	20.93	21.48
Dictyoptera/	(a)	4.38	2.79	2.12	21.33	16.71	8.47	0.00	0.35	2.05	5.95	3.49	6.14
Dictyoptères	(b)	1.39	2.66	2.26	23.86	22.82	11.31	0.58	0.50	3.94	4.53	4.96	5.27
Arachnida/	(a)	20.78	22.61	20.28	22.17	21.17	16.20	4.87	3.58	13.09	6.22	6.19	9.40
Arachnides	(b)	18.64	21.92	22.68	20.57	24.62	13.68	4.54	3.89	18.03	5.84	8.99	10.35
C. D. at 5%		7.68	7.64	7.93	9.57	9.23	10.57	17.74	13.88	8.88	10.95	10.45	10.42
I. .C. à 5%													

S. L. DIAR

Table V : Relative density of pest and predators on primary tasar food plants, *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) during the year 1986.

Tableau V : Densité relative (%) des parasites et prédateurs sur les plantes hôtes du tussah, *T. arjuna* (a) and *T. tomentosa* (b) en 1986

Order <i>Ordre</i>	Family <i>Famille</i>	Genus/species <i>Espèces</i>	Common name <i>Nom vulgaire</i>
Colcoptera <i>Coléoptères</i>	Chrysomelidae	<i>Cleoporus lefevrei</i> Duv.	Click beetle <i>Elatère</i>
		<i>Paria lefevrei</i> Jac.	Black shining beetles <i>Scarabée noir brillant</i>
		<i>Palpoxema pilicornis</i> Jac.	Red beetle <i>Scarabée rouge</i>
		<i>Tricliona picea</i> Jac.	
		<i>Tricliona variabilis</i> Jac.	
		<i>Tricliona pilicornis</i> Jac.	Carabid beetle <i>Scarabée carabidique</i>
	Carabidae	<i>Cryptocephalus sexsignatus</i>	
		<i>Anthia sexguttata</i> Ho.	
	Scarabeidae	<i>Anomala blanchardi</i>	May-June beetle <i>Scarabée de mai-juin</i>
		<i>Melolonthid</i> Sps.	Big beetle <i>Grand scarabée</i>
		<i>Psiloptera fastuosa</i> Fabr	Flat headed stem borer <i>Perforateurs à tête plate</i>
	Buprestidae	<i>Sphenoptera konbierensis</i> Kerr	"
		<i>Sternocera orientalis</i>	"
		<i>Aeolesthes holosericea</i>	Longicorn beetle <i>Scarabée longicorne</i>
	Cerambycidae		Lady bird beetle <i>Coccinelle</i>
	Coccinellidae	<i>Epilachna</i> Sps.	Weevil <i>Charençon</i>
	Curculionidae	<i>Mylocerus</i> Spss.	Bhister beetle / <i>Scarabée Bhister</i>
	Cantharidae	<i>Trypherus</i> Sps.	

Table VI / Tableau VI (1)

To be continued / suite page suivante

Order <i>Ordre</i>	Family <i>Famille</i>	Genus/species <i>Espèces</i>	Common name <i>Nom vulgaire</i>
Lepidoptera <i>Lépidoptères</i>	Noctuidae	<i>Achoea janata</i> Linn	Leaf miner <i>Larve mineuse de feuille</i>
		<i>Macalla</i> Sps.	Semilooper <i>Semi-arpenteuse</i>
	Lymantriidae	<i>Dasychira</i> Sps.	White tussock moth <i>Orgyie blanche</i>
		<i>Depressaria ricini</i> St.	Leaf miner <i>Larve mineuse de feuille</i>
	Tineidae	<i>Acanthopsyche moorei</i> Heyl	Bag insect <i>Insecte à poche</i>
	Limacodidae	<i>Parasa lepida</i> Cram	Banchekra
	Tortricidae	<i>Laspeyresia pseudonectis</i> Kerr	Shoot borer <i>Insecte perforateur de pousses</i>
		<i>Eucelis critica</i> Meyr	
	Psyllidae	<i>Trioza fletcheri minor</i> Crawl	Leaf Gall insect <i>Galle de la feuille</i>
		<i>Phylloplecta hirsuta</i> Crawl	Leaf Gall insect <i>Galle de la feuille</i>
Hemiptera <i>Hémiptères</i>	Coccidae	<i>Coccids</i>	Mealy bugs and scale insects <i>Punaises et Coccidés</i>
	Coreidae	<i>Leptocoris</i> Sps.	Plant bug <i>Punaises</i>
	Pherocoridae	<i>Dysdercus cinglatus</i> Fabr.	
	Membracidae	<i>Membracids</i>	Tree hoppers <i>Sauterelles de l'arbre</i>
	Cercopidae	<i>Clovie bipunctata</i>	Leaf hoppers <i>Sauterelles de la feuille</i>

Table VI / Tableau VI (2)

To be continued / Suite page suivante

Order Ordre	Family Famille	Genus/species Espèces	Common name Nom vulgaire
Orthoptera <i>Orthoptères</i>	Acrididae	<i>Acridids</i>	Short horned grass hoppers
		<i>Sauterelles à petites antennes</i>	
		<i>Neorthacris acuticeps</i>	Wingless grass hoppers
		<i>Sauterelles sans aile</i>	
	Tettigoniidae	<i>Nilgirensis uvarov</i>	Grass hoppers
		<i>Sauterelles</i>	
		<i>Neorthacris Sps.</i>	
		<i>Conocephalus indicus Redt.</i>	Long horned grass hopper
			<i>Ensifère</i>

Table VI / Tableau VI (3)

To be continued / suite page suivante

Order <i>Ordre</i>	Family <i>Famille</i>	Genus/species <i>Espèces</i>	Common name <i>Nom vulgaire</i>
PEST AND PREDATORS RELATED TO TASAR SILKWORMS PARASITES ET PREDATEURS RELATIFS AUX VERS A SOIE TASAR			
Hemiptera <i>Hémiptères</i>	Pentatomidae	<i>Canthecona furcellata</i>	Sting bug <i>Punaise à dard</i>
Hymenoptera <i>Hyménoptères</i>	Reduviidae	<i>Sycanus collaris</i>	"
	Ichneumonidae	<i>Xanthopimpla pedator</i>	Ichneumon fly <i>Ichneumon</i>
	Vespidae	<i>Polistes hebraeus</i>	Vespa <i>Guêpe</i>
	Formicidae	<i>Oecophylla smaragdina</i>	Ants <i>Fourmis</i>
Dictyoptera <i>Dictyoptères</i>	Mantidae	<i>Hierodulla bipapilla</i>	Praying mantis <i>Mante religieuse</i>
Diptera <i>Diptères</i>	Tachinidae	<i>Blepharipa zebina</i>	Uzi fly <i>Mouche Uzi</i>
Odonata <i>Odonatères</i>	Cordulegasteridae	<i>Hemicondulia asiatica</i>	Dragonflies <i>Libellules</i>

Table VI :Pest and predators related to primary tasar food plants (*Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa*)

Tableau VI : Parasites et prédateurs rencontrés sur les plantes nourricières primaires (*Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa*)

exceptional prevalency of pest and predators in December, (28.63% RD) and its minimum percentage (2.43% RD) in July on *T. arjuna* on the same year (1985) Dictyoptera infestation also showed greater fluctuation in RD and showed the values ranging from zero to 76.57% on *T. tomentosa* only during the first and second year, respectively. The other infestation (Arachnida) was not so common and the interesting feature was of highest RD value (50.04%) during February, 1985 on *T. arjuna* followed by the minimum of 3.58% in August, 1986 on *T. tomentosa*.

INFESTATION DIVERSITY ON SPECIES LEVEL

The over all composition of infestation related to the primary tasar food plants and the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. is incorporated in the table VI.

Among the chrysomelidae, *Triclonia picea* was the dominant species observed during the study, it was followed by *Triclonia variabilis*, *Cleoporus lefevrei* and *Cryptocephalus sexsignatus*. These insects have been noticed to cause damage to both the leaves and stem. These emerged in early June and attached the leaves and deteriorated the quality and quantity of the primary tasar food plants. *Anomala blanchardi* was predominant in scarabaeidae. It was observed that the pupation, adult emergence, oviposition and the egg hatching occurred from February through June. The adult beetles came out of the soil at dusk, mate and fed on the leaves during night and in the morning got back to burrows in the soil 4 to 11 inches. In *T. arjuna*, the infestation varied from 15.32 to 42.27% during the months of May to August, whereas, in *T. tomentosa* infestation ranged from second week of May to last week of August, recording the fate of infestation up to the tune of approximately 45%. In Buprestidae (Stem borers), the infestation was found to be very low 2.2% and 2% for former and later food plants, respectively. *Aeolesthes holosericea* (Cerambycidae) was also found injurious for primary tasar food plants. Both grubs and adults attacked the plants, the grubs were more destructive. It is interesting to note that the stem borer showed presence by the accumulation of granular frass and discolouration i.e., wet spots caused by the sap leakage and occurred around the attack site. Due to attack this stem borer the plants have been observed to become weak because of irregular gallery formation. The infestation was comparatively higher (34.69%) in *T. tomentosa* than the *T. arjuna* (24.49%). *Epilachna* and *myllocerus* spp. were less common during the study. The dominance of Lepidopteran insects is because of the greater number of *Macalla* spp. and *Achoea* Spp., being the leaf eater whileto that bag insects were less common followed by *Laspeyresia pseudonectis*.

In Hemiptera, *Trioza fleischeri* minor, *Phylloplectia hirsuta* and *Clovina bipunctata* were observed to be common species. Out of these *Trioza fleischeri* minor was the most damaging species causing Nymphal population increased from June onwards every year and reached its peak during July - August, 1985 and 1986. The rate of infestation varied from 10% (*T. arjuna*) to 15% (*T. tomentosa*).

Psyllid population as a whole declined gradually during winter from November to February during the years of study. Major species like *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris* (Hemiptera) *Xanthopimpla pedator*, *polistes herbraeus*, *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera) have been noticed as the major predators economically destructive to the industry and resulted 30 - 40% crop loss. *Blepharipa zebina* (Diptera : Tachinidae) was among the major parasite of silkworm. The flies appeared in October and multiplied to its peak during November. The incidence was quite low from December to February but showed dominance during the 2nd tasar crop period (October - November) and the parasite damaged crop upto 10 to 20% in the rearing zones.

DISCUSSION

Population dynamics :

The high infestation recorded on both the food plants is mainly due to soft and succulent leaves favoured by the nymphs and larvae of myriad of insect groups and thereby contributing directly towards its infestation and resulting in the consumption of foliage upto the tune of 20 - 35% of the total leaf yield. Major groups like Lepidoptera and Coleoptera occurred practically in all situations where foliage was more and dominant from March to December. Their dominance was more due to abundant supply of food material appropriate for their different developmental stages in the tasar ecosystem

during April - December. The study revealed that the infestation appeared to be more consistent factor in deciding the population structures in this ecosystem. The apparent difference in density of pests between *T. arjuna* and *T. tomentosa* had an effect on the tropic relationships of each of the plant species to its immediate environment. Good plant cover, undisturbed nature of leaf and microclimatic system (Fig. 1) favoured the growth of infestation. Lepidopterans in particular formed a complex assemblage of various species which were further supported primarily by abiotic factors. Arachnid infestation was recorded during January - March unlike others and which surface concentration than the adults. In the present investigation it was noticed that the peak population was related to the breeding cycle of the pest and predators. The peak population being the nymphs and larvae, the percentage of adult was limited mainly due to natural and other related mortality in the nymphal and larval development. Further the different species have different breeding patterns in which the larvae or nymphs are predominant at the particular time of the year giving rise to peak population which later on dwindled. Hence, peak population is directly related to the breeding cycle of pest and predators which may be limited by environmental condition.

Seasonal fluctuation of infestation :

The seasonal variations in the population density of various taxa were brought about by the microclimatic changes and abiotic factors. Taking the infestation as a whole it reflected two or three maxima and minima during the study, 1985 and 1986, the peaks on *T. arjuna* in July - August and on *T. tomentosa* in July - September. It was closely related to the reproductive cycle of the various species and there was dominance of immature forms during the infestation growth. The evident reason being that immature stages were over wintered stages (December - February) which later showed their presence after winter as well. Usher (1970) stressed that cyclic processes are characteristic features of animal growth although long term cyclic processes are well known in the mammals but so far have not been demonstrated in the soil arthropods hence these findings led secondary support to the present investigation. Rainfall also favoured preponderance of fauna as also observed by RYKE and LOOTS (1969) in case of microarthropods. The growth and preponderance of infestation was associated with the fluctuations involving of temperature, relative humidity and rainfall. Grubs and other related immature of the pest and predators showed winter migration to lower layers of soil and other favourable microclimate apparently due to severe pedoclimatic conditions.

Community structure :

Fig. 3 reveals the percentage composition of different infestation (Annual basis). Coleoptera varied from 41.18-27.30%, thereby showing greater ecological diversity during the study and exceeded all the groups in numerical density on *T. arjuna* while to that the infestation showed little difference (34.65-34.73%) on *T. tomentosa* on Lepidopteran level during the first and second years. It is therefore observed that community of lepidoptera maintained balance in the tropical ecosystem. The variation in community of coleoptera not restricted to chemical formulation but strongly multiplied only in the absence or lesser impact of their natural enemies.

Community structure of species diversity :

Community structure revealed the earlier record of 30 families and 45 genera related to food plants and the silkworm during the present study. There was a great competition within the insect community while studying the food web.

The coleopterian infestation on the tasar food plants was represented by 8 families and 16 genera, dominated by *Triclistus*, and *Anomala* followed by *Paria* spp. Majority of them were observed on *T. arjuna* probably because of high nutrient status. Secondly, their dominance in the tropical zone may also be predominant due to hard covering which helps these to overcome desiccation. *Aeolesthes holosericea* falling in cerambycidae was one of the dominant stem borer, forming irregular galleries and reduces the growth of trees. Singh *et al.* (1977) and (1987) Lakra *et al.* (1980) reported the same mode of damage of peaches by peach bores on *Sphenoptera lafertei* and is in conformity with Batra

PEST AND PREDATORS OF TASAR HOST PLANT

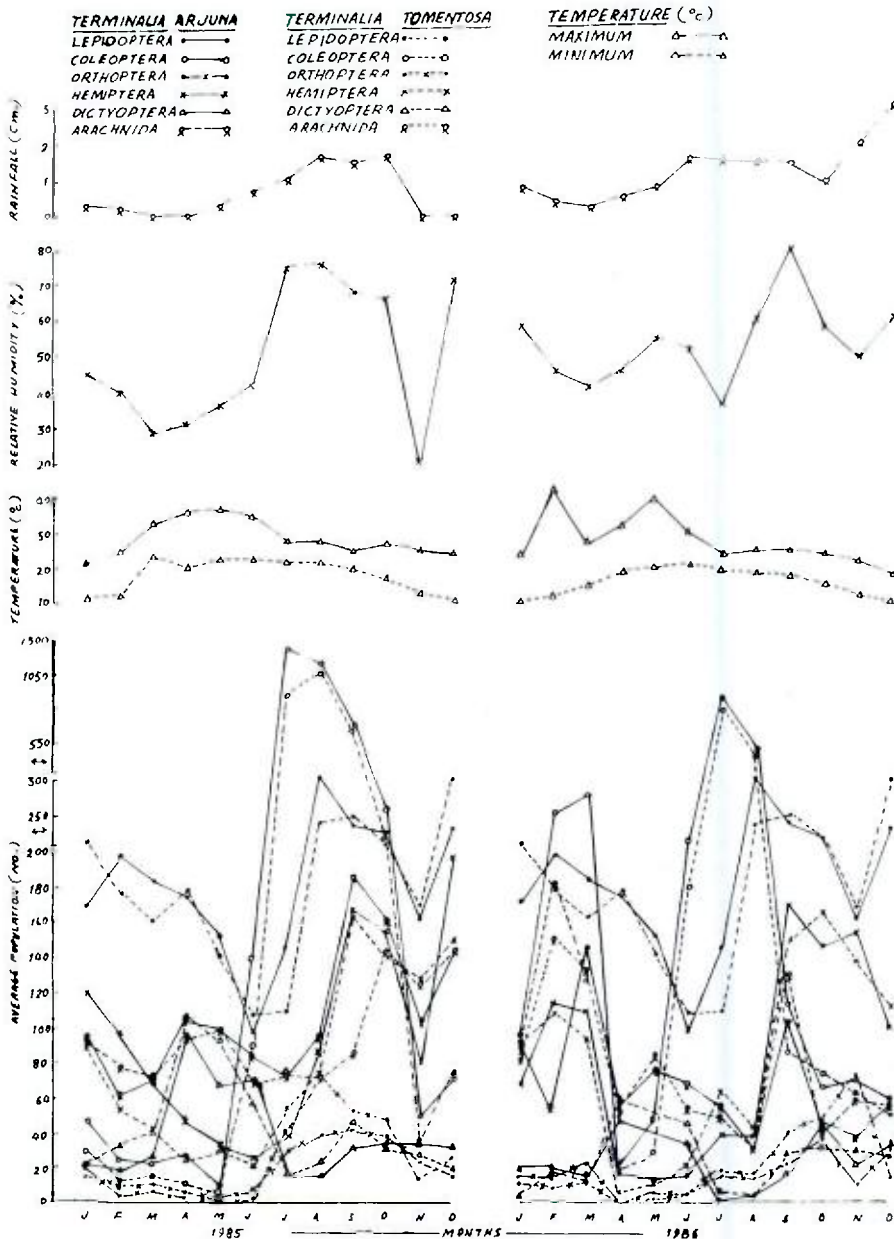


Fig. 1. : Monthly population fluctuation of pest and predators of primary tasar food plants and other related abiotic factors during years 1985 and 1986.

Fluctuation de la population mensuelle des parasites et prédateurs des plantes nourricières du tasar primaire et autres facteurs abiotiques corrélaires en 1985 et 1986.

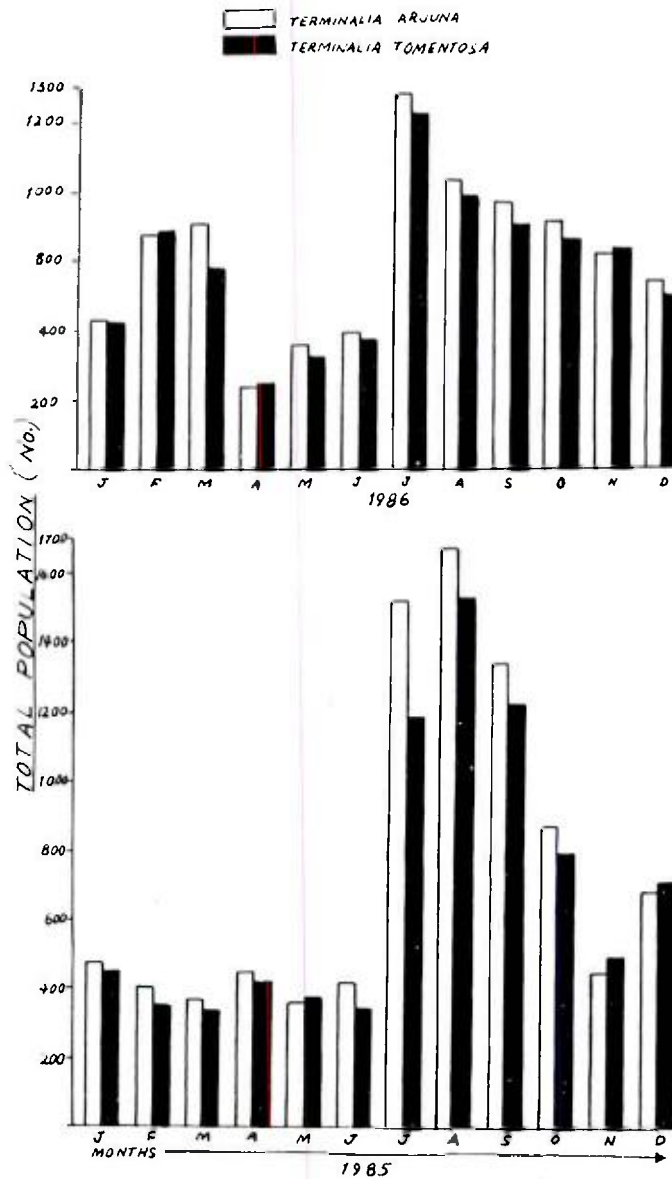


Fig. 2 : Total infestation of pest and predators (monthwise) on *T. tomentosa* and *T. arjuna* during the years 1985 and 1986.

Infestation totale (par mois) des parasites et prédateurs de T. tomentosa et T. arjuna en 1985 et 1986.

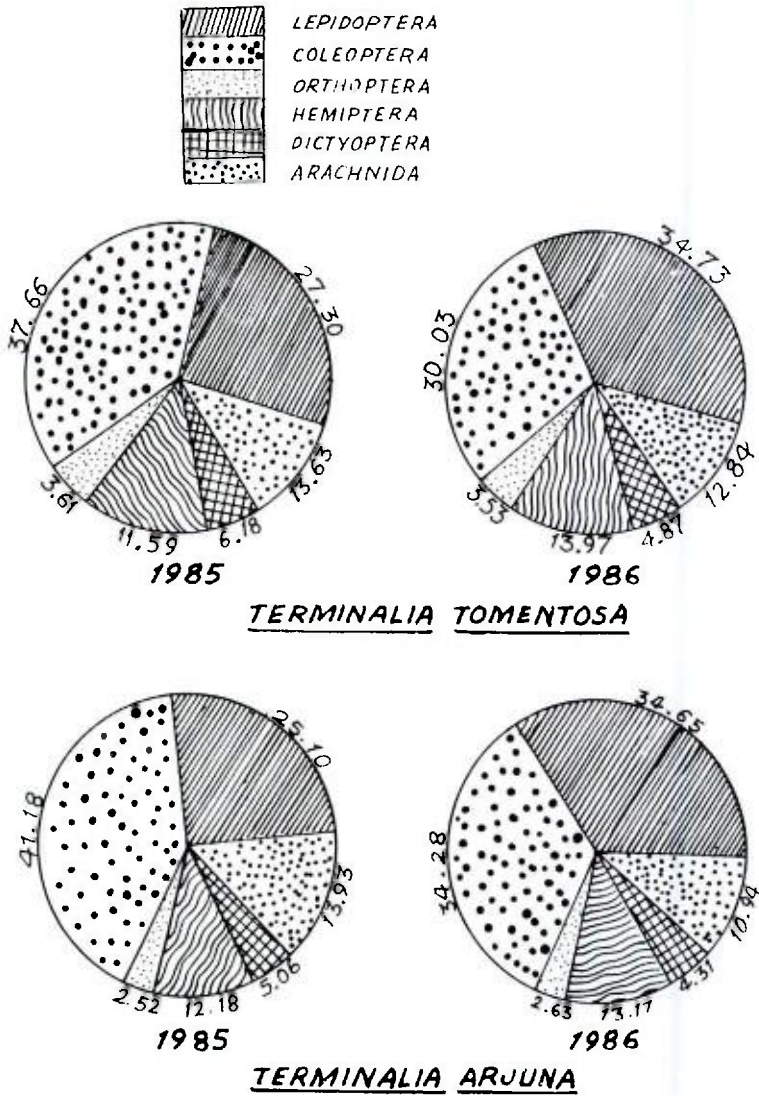


Fig. 3 : Mean percentage composition of different infestations on *T. arjuna* and *T. tomentosa* during the years 1985 and 1986.

Composition moyenne (en pourcentage) des différentes infestations de *T. arjuna* et *T. tomentosa* en 1985 et 1986.

and Ranjhen (1950) also. *Aeolesthes holosericea* requires high temperature for oviposition and larval development hence suits with the present ecosystem. This observation is in parallel with the findings of Sharma *et al.* (1963) and Singh *et al.* (1987).

The Coccinellidae, Curculionidae and Cantharidae were less common and may be attributed to frequency, magnitude and timings with respect to the peak population fluctuation. This in turn might be largely controlled by the local environmental factors like temperature, humidity and other abiotic factors (Fig. 1).

Lepidoptera is represented by 6 families and 8 genera on community level. Major infestation was observed during second crop and the detailed mode of damage by this order is open for study.

Hemiptera represented by 6 families and 7 genera is dominated by psyllidae. Psyllid population showed the major infestation of *Trioza fletcheri* minor on *T. tomentosa* and showed presence through out the year even below 10°C. Clark (1962) recorded the similar trend on the fluctuation of nymphal population in psyllids. Mani (1973) and Ananthakrishnan *et al.* (1983) are also of the opinion that fluctuation is related to the abiotic factors. The peak of population was stimulated by the rains, Catling (1971).

Hemiptera, Hymenoptera, Dictyoptera, Diptera and Odonata represented by 8 families and 8 genera related to tasar silkworm, showed maximum predominance during the second crop of tasar in tropical region. Due to availability of quality food viz. Hemolymph, the maximum damage was done because of *Blepharipa zebina*, *Xanthopimpla pedator*, *Sycanus collaris*, *Oecophylla smaragdina* and were responsible for the crop loss. *Canthecona furcellata* thrived well upto 2nd or 3rd instar on the rich nutrient status from foliage accompanied by the abiotic factors and later shifted to tasar silkworms.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are thankful to Zoological Survey of India, Calcutta for help in insect identification from time to time during the study.

REFERENCES

- ANANTHAKRISHNAN T. N. (1984) Gall insect Oxford I. B. pub.
- BATRA H. N. and RANJHAN, P. L. (1950). Preliminary observation on the biology of the Buprestid borer *Sphenoptera laferiei* (Thamson) on certain fruit tree in North west India, Indian J. Ent. 12 (2) : 159-165.
- BESSON C. F. C. (1941). The ecology and control of forest insects of India and neighbouring countries. pp. 775-782 (Vasant press Dehradun).
- BINDRA O. S. and VERMA G. C. (1969). Studies on the chemical control of *Trioza fletcheri* minor. Forestor 95 : 263-265.
- CATLING H. D. (1971). Psylla *Trioza erythrae* (Delugercio) (Homoptera : Psyllidae) 5. The influence of host plant quality Jour. Ent. Soc. 5th Africa 33 (341-348)
- CLARK L. R. (1962). The general biology of *Cardiaspora albifextura* (Psyllidae) and its abundance in relating to weather and parasitism. Aust. Jour. Zool. 10 : 537-586.
- LAKRA R. K., D. S. GUPTA and J. P. BHANOT (1980). Nature and extent of damage and varietal susceptibility of peaches to peach borer *Sphenoptera laferiei* Indian J. Ent. 42 (2) : 233-239.
- MANDAL K. C. (1986). Diseases and pests of tasar silkworm and host plants. Workshop on tasar culture. Patelnagar, West Bengal.
- MANI M. S. (1973). Plants galls of India Macmillan India.
- RYKE P. A. J. and LOOTS G. (1967). The composition of microarthropods fauna in South Africa Soils. In. progress in soil biology (Graff G. and Satchell J. E. ed.), pp. 538-546.
- SINGH R. N., MANDAL K. C., DHAR S. L. and SENGUPTA K. (1987). Studies on the biology and extent of damage to tasar food plants by the stem borer *Aeolesthes holosericea* (Cerambycida Coleoptera) Sericologia : 27(3).
- SINGH S. R. and RAO N. S. (1955). Chemical control of citrus leaf minor *Phyllocnistis citrella* Stainton with various systemic insecticides. Int. Symp Citriculture, Bangalore Abs. (p. 33-34).

SINGH S.R. and RAO N. S. (1977). Chemical and vertical distribution of a population of soil arthropods. *Collembola, Pedobiologia* 10 : 224-236.

BIOCENOLOGIE ET STRUCTURE DE LA COMMUNAUTE DES PARASITES ET PREDATEURS DANS LA REGION TROPICALE DE RANCHI, INDE

S.L. DHAR, K.C. MONDAL, R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, S.S. SINHA and K. SENGUPTA

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

*On a observé que les principaux prédateurs tels que *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris*, *Xanthopimpla pedator*, *Polistes herbraeus*, détruisaient les vers à soie tasar dans une proportion de 10 à 20 %. *Blepharipa zebina* est le parasite principal et présente un pic en novembre-décembre (2^e et 3^e récoltes). La croissance et la prépondérance de cette infestation sont liées aux fluctuations des facteurs micro-climatiques et abiotiques.*

INTRODUCTION

Les plantes nourricières primaires, à savoir *Terminalia arjuna* (A & W) et *Terminalia tomentosa* (A & W) du ver à soie tasar (*A. mylitta* D.) se trouvent sur toute la ceinture tropicale humide du Plateau Central et du Sud de l'Inde. Auparavant, les plantes nourricières tasar n'étaient pas cultivées de manière extensive. On utilisait des plantes tasar non cultivées pour les élevages de vers à soie. Mais depuis l'adoption de techniques agricoles scientifiques ayant pour but une culture intensive des plantes nourricières en monoculture sur de grandes surfaces, les plantes nourricières sont soumises à différentes méthodes culturales entraînant une modification de la croissance physiologique. De ce fait, la résistance naturelle contre les attaques d'insectes a été considérablement réduite chez les plantes cultivées par rapport aux plantes poussant naturellement dans la forêt. L'incidence de l'attaque des parasites a augmenté chez les plantes et chez les vers à soie.

On estime que dans les élevages conventionnels, environ 70-80% de la récolte sont perdus en raison de ce risque et en fin de compte, l'éleveur ne récolte que 20 à 30% de la récolte (Mandal, 1986). Du fait de la nature sauvage des plantes, l'élevage *in toto* est sujet à de nombreuses attaques. En Inde, les études sur ce sujet sont négligées et pratiquement aucune étude n'a été entreprise depuis longtemps. Aussi notre étude portant sur la composition qualitative, la taille de la population, le schéma de distribution et les relations avec les facteurs abiotiques est des plus importantes. De plus, cette étude apporte des informations globales sur le rôle des parasites et des prédateurs dans l'écosystème du tasar tropical et aidera le développement de l'industrie de la soie tasar.

Zone d'étude :

La zone d'étude, laboratoire de terrain à Nagri dépend du district de Ranchi (latitude 23°24' N et longitude 85°18'E), est située dans la région tropicale du Sud Est de l'Inde (Altitude 708 M, AMSL). Cette zone est plantée de *Terminalia arjuna* et *T. Tomentosa* sur environ 24,66 hectares.

MATERIEL ET METHODES

L'étude a été conduite sur la base d'un schéma statistique étudiant, sur des zones de 3,09 et 2,70 hectares, les récoltes de *Terminalia arjuna* et *T. tomentosa* sur 3 191 et 5 728 arbres respectivement. Dans chaque lot, 90 plantes ont été étudiées au hasard. Les observations ont été enregistrées deux fois par semaine, dans chaque lot et pendant toute l'étude. Une méthode de calcul direct a été adoptée.

Les échantillons ont été collectés, conservés et identifiés. La population saisonnière est estimée à partir de calculs portant sur des vers à soie jeunes aussi bien qu'adultes et sur les plantes nourricières. Les données météorologiques, température, humidité relative et chute de pluie ont été enregistrées chaque jour.

RESULTATS

Fluctuations mensuelles de la densité des parasites et des prédateurs :

Les tableaux I et II et la Figure 1 donnent la densité moyenne et l'écart type des parasites et prédateurs logeant sur *T. arjuna* et *T. tomentosa* pendant les deux années de l'étude (1985-1986).

La population la plus forte (8 982 individus / 3 191 plantes) a été enregistrée sur *T. arjuna* pendant l'année 1985, le nombre le plus bas de 7019 individus / 5728 plantes sur *T. tomentosa* en 1986. La taille maximum de la population de parasites et prédateurs a été observée sur *T. tomentosa*, 1985 (3 031,04 individus/hectares) sur *T. arjuna* en 1986, mais la densité moyenne des parasites et prédateurs était comparativement plus élevée (2,81 individus / plante) sur *T. arjuna*, 1985 et basse (1,23 individus / plante) sur *T. tomentosa* pendant l'année 1986 (Tableau III).

Le niveau moyen indique une poussée en août 1985 avec un nombre moyen de 1669 individus sur *T. arjuna*, suivis par 239 individus en avril 1986 sur la même plante nourricière. La densité a varié de 333 à 1636 individus sur *T. tomentosa* au cours de l'étude. Pour les lépidoptères, le nombre maximum de parasites attaquant *T. arjuna* (393 ± 31 individus) a été enregistré en octobre 1986 suivi par 106 ± 14 individus sur *T. tomentosa*, au mois de juin 1985, montrant ainsi une poussée et un creux dans les années respectives. Les insectes coléoptères ont dominé pendant l'étude sur les deux récoltes. La courbe de croissance bimodale reflète les plus hautes valeurs de 1222 ± 32 (juillet) et 1143 ± 17 (août) sur *T. arjuna* en 1985, alors qu'un pic moins élevé (1063 ± 21) fut enregistré sur *T. tomentosa* la même année. La population la plus basse (5 ± 2) a été observée sur *T. tomentosa* en mai 1985. Chez les orthoptères, la densité de population n'a pas été prédominante pendant cette étude. La densité a varié de 1 ± 1 (*T. arjuna*) à 71 ± 19 (*T. tomentosa*) pendant l'année 1985. Il est intéressant de noter que la taille de la population des insectes a été réduite à 0 en avril 1986 sur *T. tomentosa*. Les hémiptères comprenant *Leptocorisa*, *Dystercus* et *Cercopa* spp. ont atteint un maximum en décembre 1985 et septembre 1986 avec des enregistrements respectifs de 195 ± 4 et 168 ± 4 sur *T. arjuna*. Le nombre le plus faible (7 ± 3) a été enregistré sur *T. tomentosa* en avril 1986. Chez les Dictyoptères, la densité de la population s'est maintenue (22 ± 4) pendant le mois de janvier 1985 sur les deux plantes. Le résultat maximum a été de 103 ± 21 sur *T. tomentosa* en avril 1985 alors qu'aucun insecte n'a été enregistré pendant le mois de juillet 1986 sur *T. arjuna*. Pour les Arachnides, un maximum (183 ± 3) a été observé sur *T. arjuna* en 1985 et le minimum de 30 ± 4 sur la même plante nourricière en 1986.

Densité relative :

La forte croissance faunale est le résultat de l'interaction des différents groupes constituants. Ainsi les variations mensuelles ou les sommets et creux enregistrés pour la densité des parasites et des groupes prédateurs ne coïncident pas toujours avec les valeurs hautes et basses obtenues pour la densité relative (R.D.). Les résultats sont présentés sur les tableaux IV et V et la figure 2. Les insectes lépidoptères présentent leur pourcentage d'infestation le plus élevé en octobre 1986 (54,36% RD) sur *T. arjuna* et un minimum en juillet 1985 (9,07% RD) sur *T. tomentosa*. Chez les coléoptères, le pourcentage maximum (80,39% RD) a été enregistré en juillet 1985 et le minimum de 2,67% (*T. tomentosa*) pendant avril 1985. En 1986, le pourcentage s'est situé entre 7,53 - 77,09 et 7,81 - 75,61 sur *T. arjuna* et *T. tomentosa* respectivement. Chez les orthoptères, l'infestation n'était pas prédominante. Sa caractéristique est une différence plus grande indiquant zéro RD (avril) et la valeur la plus haute 6,72 % sur *T. tomentosa* pendant 1986. Chez les hémiptères, il faut noter une infestation exceptionnelle des parasites et prédateurs en décembre (28,63 % RD) et un pourcentage minimum (2,43 % RD) en juillet sur *T. arjuna* de la même année (1985). L'infestation des dictyoptères a également présenté une plus grande fluctuation de RD avec des valeurs allant de zéro à 76,57% sur

T. tomentosa seulement pendant la première et la deuxième année respectivement. L'autre infestation (Arachnide) n'était pas très courante et sa caractéristique a été une haute valeur de RD (50,04 %) pendant février 1985, sur *T. arjuna* suivie par un minimum de 3,58% en août 1986 sur *T. tomentosa*.

Diversité de l'infestation suivant les espèces :

La composition globale de l'infestation en relation avec les plantes tassar primaires et le ver à soie tassar *Antheraea mylitta* D. est présenté sur le tableau IV.

Parmi les *chrysomelidae*, *Triclonia picea* a été la principale espèce observée pendant cette étude, suivie par *Triclonia variabilis*, *Cleoporus lefevrei* et *Cryptocephalus sexsignatus*. On a remarqué que ces insectes endommageaient aussi bien les feuilles que les tiges. Ils émergent au début de juin, attaquent les feuilles et détériorent quantitativement et qualitativement les plantes nourricières tassar primaires. *Anomala blanchardi* prédomine chez les *scarabaeidae*. On a observé que la nymphose, l'émergence de l'adulte, l'oviposition et l'éclosion des oeufs ont lieu de février à juin. Les scarabées adultes sortent du sol à la tombée du jour, s'accouplent et se nourrissent des feuilles pendant la nuit et la matin s'enfoncent à nouveau dans le sol à 4-11 pouces. Chez *T. arjuna*, l'infestation varie de 15,32 à 42,27 % de mai à août, alors que chez *T. tomentosa*, l'infestation se produit de la deuxième semaine de mai à la dernière semaine d'août, pour atteindre 45%. Chez *Sprentidae* (perceur de tige) l'infestation était très faible, 2,2% et 2% pour les premières et dernières plantes nourricières respectivement. *Aeolesthes holosericea* (Cerambycidae) s'est aussi avéré nuisible pour les plantes nourricières tassar primaires. Les larves et les adultes attaquent les plantes, les larves étant les plus destructrices. Il est intéressant de noter que les insectes perforants marquent leur présence par l'accumulation de poudre de bois et une décoloration des parties humides causées par le lèchage de la sève se trouvant autour des zones attaquées. Après avoir été attaquées par les insectes perforants, on a observé que les plantes se sont affaiblies en raison de la formation de galeries irrégulières. L'infestation était comparativement plus forte (34,69%) chez *T. tomentosa* que chez *T. arjuna* (24,49%). Les espèces *epilachna* et *myllocerus* furent moins fréquentes pendant cette étude. La dominance des insectes Lépidoptères provient du grand nombre des espèces *Macallus* et *Achoea* qui mangent les feuilles alors que ces insectes sont peu communs suivis par *Laspeyresia pseudonectis*.

Chez les Hémiptères, *Trioza fletcheri minor*, *Phylloplecta hirsuta* et *Clovio bipunctata* se sont avérées être des espèces communes. Parmi elles, *Trioza fletcheri minor* est l'espèce la plus destructrice en ayant une augmentation de la population nymphale juillet-août, 1985 et 1986. Le taux d'infestation varie de 10 % (*T. arjuna*) à 15 % (*T. tomentosa*). La population de psyllidés a globalement diminué pendant l'hiver, de novembre à février au cours des années d'étude.

Les espèces principales telles que *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris* (Hemiptera), *Xanthopimpla pedator*, *polistes herbraeus*, *Oecophylla smaragdina* (Hymenopteres), se sont avérées être les prédateurs principaux les plus destructeurs pour l'économie de l'industrie et ont provoqué une perte de 30-40 %. *Blepharipa zebina* (Diptera : Tachinidae) est un des parasites principaux du ver à soie. Les mouches apparaissent en octobre et se multiplient pour atteindre un maximum en novembre. L'incidence est assez faible de décembre à février avec un pic pendant la seconde récolte tassar (octobre-novembre) et le parasite a endommagé de 10 à 20 % de la récolte.

DISCUSSION

Dynamique de la population :

Le fort taux d'infestation enregistré sur les deux plantes nourricières vient de ce que les chrysalides et les larves de nombreux insectes apprécient beaucoup les feuilles tendres et succulentes, ce qui contribue directement à l'infestation ainsi qu'à la consommation de feuilles allant de 20-35 % de la production totale de feuilles. Les groupes principaux comme les Lépidoptères et les Coléoptères apparaissent dans presque toutes les situations où le feuillage est abondant et sont dominants de mars

à décembre. Ceci s'explique par le grand approvisionnement en nourriture adapté à leurs différents stades du développement dans l'écosystème tassar d'avril à décembre. Notre étude montre que l'infestation influe de manière décisive sur la structure de la population de cet écosystème. La différence apparente de densité des parasites entre *T.arjuna* et *T.tomentosa* a une influence sur les relations trophiques de chaque espèce de plantes avec son environnement immédiat. Une bonne couverture des feuilles, des feuilles intactes et un système microclimatique (Fig.1) favorise le développement de l'infestation. Les lépidoptères en particulier forment un assemblage complexe de diverses espèces qui sont favorisées principalement par les facteurs abiotiques. L'infestation d'araignées a été enregistrée en janvier-mars, contrairement à d'autres et aux adultes. Dans la présente étude, on a remarqué que le maximum de population est en relation avec le cycle de croissance des parasites et prédateurs. Le maximum de la population étant constitué des chrysalides et des larves, le pourcentage d'adultes est limité principalement en raison de la mortalité des chrysalides et au cours du développement larvaire. De plus, les différentes espèces ont des schémas de croissance différents au cours desquels prédominent à certains stades soit les larves, soit les chrysalides, donnant une population maximum qui ensuite diminue.

Fluctuations saisonnières de l'infestation :

Les variations saisonnières de densité de population des différents taxa dépendent des changements microclimatiques et des facteurs abiotiques. Au cours de l'étude, l'infestation a présenté deux ou trois maxima et minima, 1985 et 1986, les sommets étant sur *T.arjuna* en juillet-août et sur *T.tomentosa* en juillet-septembre. Ceci est étroitement lié au cycle de reproduction des différentes espèces et les formes immatures dominent pendant l'augmentation de l'infestation. Cela s'explique bien sûr par le fait que les stades immatures correspondent à des périodes d'hiver (décembre-février) et leur présence se retrouve au-delà de l'hiver. Usher insiste sur le fait que les processus cycliques sont des traits caractéristiques de la croissance de l'animal et bien que les processus à cycles longs soient très bien connus chez les mammifères, aucune démonstration de ce type n'a été faite chez les arthropodes du sol. Les pluies favorisent aussi la faune, comme l'ont observé Ryke et Loots (1969) dans le cas des microarthropodes. La croissance et la prépondérance de l'infestation sont liées aux fluctuations de température, d'humidité relative et des pluies. Les larves et autres formes immatures des parasites et prédateurs présentent une migration hivernale vers les couches inférieures du sol et d'autres microclimats favorables en raison des conditions pédoclimatiques sévères.

Structure de la communauté :

La figure 3 indique la composition en pourcentage des différentes infestations (base annuelle). Les coléoptères varient de 41,18 - 27,3 % montrant une plus grande diversité écologique au cours de l'étude et ils ont dépassé tous les groupes en densité numérique sur *T.arjuna* alors que sur *T.tomentosa* l'infestation présente une petite différence (34,65 - 34,73 %) au niveau des lépidoptères, ceci pendant la première et la seconde année. On a pu ainsi observer que le groupe des lépidoptères s'est maintenu en équilibre dans l'écosystème tropical. Les variations dans la communauté des coléoptères ne se réduisent pas à une formule chimique ; ils se multiplient rapidement suivant l'absence ou suivant l'impact de leurs ennemis naturels.

Structure de la communauté des diverses espèces :

La structure de la communauté enregistrée indique que 30 familles et 45 genres sont en relation avec les plantes nourricières et les vers à soie au cours de cette étude.

L'infestation des coléoptères sur les plantes nourricières tassar est représentée par 8 familles et 16 genres dans lesquels dominent *Triclionia* et *Anomala* suivis par *Paria spp.* La majorité d'entre eux est présente sur *T.arjuna* probablement en raison de son grand pouvoir nutritif. De plus leur prédominance dans les zones tropicales peut être également due à leur enveloppe extérieure dure qui les aide à lutter contre la dessiccation. *Aeolesthes holosericea* appartenant aux cerambycides est un des insectes perforateurs de la tige les plus importants ; il forme des galeries irrégulières et ralentit la

pousse des arbres. Singh *et coll.* (1977) et (1987) Lakra *et coll.* (1980) ont observé les mêmes sortes de dégâts sur les pêches par des insectes perforateurs sur *Sphenoptera lafertei*. Leurs observations concordent aussi avec celles de Batra et Ranjhen (1950). *Aeolesthes holosericea* a besoin d'une haute température pour l'oviposition et le développement larvaire, il est donc bien adapté à l'écosystème présent. Ces observations sont parallèles à celles de Sharma *et coll.* (1963) et Singh *et coll.* (1977).

Les Coccinellidés, Curculionidés et Cantharidés se rencontrent moins fréquemment et leur présence est liée à la fréquence, l'amplitude, le rythme de la fluctuation du maximum de population. Ceci peut être largement contrôlé par les facteurs d'environnement locaux tels que la température, l'humidité et les autres facteurs abiotiques (Fig.1).

Les lépidoptères sont représentés par 6 familles et 8 genres. La plus forte infestation a été observée pendant la seconde récolte. Aucune étude n'a été entreprise sur les dégâts causés par ces insectes.

Les hémiptères représentés par 6 familles et 8 genres sont dominés par les psyllidés. La population de psyllidés donne une infestation maximum par *Trioza fletcheri minor* sur *T. tomentosa* et a été présente, tout au long de l'année, même par une température de -10°C . Clark (1962) a enregistré une tendance similaire dans la fluctuation de la population nymphale chez les psyllidés. Mani (1973) et Ananthakrishnan *et al* (1983) pensent aussi que la fluctuation dépend des facteurs abiotiques. La population maximum est stimulée par les pluies, Catling (1971).

Les Hémiptères, Hyménoptères, Dictyoptères, Diptères et Odonates représentés par 8 familles et 8 genres liés au ver à soie tasar présentent un maximum pendant la seconde récolte de tasar en région tropicale. En raison de la disponibilité de nourriture de qualité, à savoir l'hémolymphe, les dégâts maximums ont été causés par *Blepharipa zebina*, *Xanthopimpla pedator*, *Sycanus collaris*, *Oecophylla smaragdina* et ont provoqué une perte dans les récoltes. *Canthecona furcellata* s'est bien développé jusqu'au deuxième ou troisième âge sur les feuilles riches en valeur nutritive puis les mangeurs se sont tournés vers les vers à soie tasar.

CONTROL OF *DERMESTES CADEVERINUS* FABRICIUS ON INFESTED COCOONS OF *BOMBYX MORI* (L) ON A LARGE SCALE

S.K. CHOWDHARY*, N.A. MUNSHI, M.Y. GHANI AND S. MATHU*

Division of Sericulture, S.K. University of Agricultural Sciences and Technology, Mirgund, Kashmir, India.

Dry cocoons of B. mori (L) infested with D. cadaverinus Fab. were subjected to different temperature treatments by sechoiring (dry, hot air treatment) and a one hundred percent mortality was observed even at 40±2 °C for half an hour. No significant effect was observed in loss in weight and different reeling characters studied under different temperature treatment for different durations.

Keywords : *Bombyx mori* L., cocoons, Filature, pest, *Dermestes cadaverinus* (Fab).

INTRODUCTION

In the recent dry crop taking season a heavy infestation of cocoons by *Dermestes cadaverinus* Fabricius was observed in the cocoon godowns of Kashmir Filature and stores in villages. This pest is causing serious damage to the cocoons by boring them for pupal feeding and therefore rendering them unfit for reeling. The pest was observed to feed also on leather, fur, dried fish, carpet, other woolens and silken materials (Ullal and Narasimhanna, 1981).

On looking to the huge godowns of the Kashmir Filature which are 425'x56'x28' in size, having the sides covered with perforated wire meshes for aeration. It was not possible to use directly the fumigants, such as methyl bromide and chloropicrin as recommended by Yokoyama (1962), Metcalf and Flint (1962). On the other hand, the use of DDT recommended by Jensen and Holdway (1946) was not possible either, because of its residual effect. Nor was it possible to have hot air treatment, inside such huge godowns and inside the rearers' houses which are mostly made of mud. A method of controlling this infestation by sechoiring (dry, hot air treatment) was therefore adopted in the present studies.

MATERIALS AND METHODS

For the sechoiring of infested cocoons three temperatures were taken viz. 40±2°C, 50±2°C and 60±2°C for different durations, i.e. 1/2 hour ± 5 minutes and one hour ±5 minutes. The sechoiring was conducted in the sechoiring plant of Kashmir Filature (the size of each oven is 3'x3'x4'). Three replicates were run for each treatment and each replicate was of 10 kgs dry infested cocoons. In addition to this, three replicates were kept as control in which no sechoiring was done. The level of infestation of the infested cocoon stocks selected for the experiment was determined by random sampling and was in an average 6.5% in both treated and untreated batches in the first trial and 4.8% in the second trial when the experiment was repeated to compare the results. In order to assess the

Results of the first trial/Résultats du premier essai

S. N°	Treatments (sechoiring temp./period)	Mortality %	Average loss in weighthment kg/10kgs)	Average Renditta	Average N° of breaks during winding	Average denier	Average tensile strength
S. N°	Traitements (Séchage temp./durée)	% mortalité	Perte moyenne de poids (kg/10 kgs.)	Rendement à la bassine moyen	N° moyen de cassures pendant le dévidage	Denier moyen	Limite élastique à la traction moyenne
1	40±2°C/1/2 hr.	100	0.533	3.258	0.333	33.53	3.47
2	40±2°C/1 hr.	100	0.954	3.509	1.000	32.66	3.57
3	50±2°C/1/2 hr.	100	0.717	3.430	0.333	33.13	3.39
4	50±2°C/1 hr.	100	0.917	3.512	1.666	29.66	3.49
5	60±2°C/1/2 hr.	100	0.650	3.573	0.333	30.00	3.40
6	60±2°C/1 hr.	100	0.700	3.628	1.666	33.60	3.45
7	No sechoiring Sans séchage	nil néant	0.000	3.418	0.666	32.90	3.46
Variance ratio Taux de variation			2.300	1.180	0.667	0.679	1.180
Tab. F (5%)			3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
			NS	NS	NS	NS	NS

to be continued/suite page suivante

Results of the second trial//Résultats du deuxième essai

S. N°	Treatments (sechoiring temp./period)	Mortality %	Average loss in weighment kg/10kgs)	Average Renditta	Average N° of breaks during winding	Average denier	Average tensile strength
S. N°	Traitements (Séchage temp./durée)	% mortalité	Perte moyenne de poids (kg/10 kgs.)	Rendement à la bassine moyen	N° moyen de cassures pendant le dévidage	Denier moyen	Limite élastique à la traction moyenne
1	40±2°C/1/2 hr.	100	0.533	3.46	0.333	30.20	3.48
2	40±2°C/1 hr.	100	0.600	3.45	0.666	30.68	3.53
3	50±2°C/1/2 hr.	100	0.583	3.45	0.333	29.84	3.52
4	50±2°C/1 hr.	100	0.733	3.48	1.000	29.76	3.50
5	60±2°C/1/2 hr.	100	0.666	3.53	0.666	29.68	3.48
6	60±2°C/1 hr.	100	0.766	3.47	1.333	29.41	3.48
7	No sechoiring Sans séchage	nil néant	0.000	3.51	0.666	29.40	3.51 I
Variance ratio			2.362	1.086	1.600	0.444	0.25
Taux de variation			3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Tab. F (5%)			NS	NS	NS	NS	NS

Table I : Effect of sechoiring on the mortality of *Dermestes cadaverinus* Fab. and on silk charactersTableau I : Effet du séchage sur la mortalité de *Dermestes cadaverinus* Fab. et sur les caractères de la soie

mortality percentage of the pest both inside and outside the cocoons and also the effect on the quality and quantity of the silk, the following parameters were fixed. For the study of parameters (4-8), two kgs of sechoired normal cocoons were taken from each replicate in both trials.

1. Sechoiring temperature of cocoons
2. Sechoiring period of cocoons
3. Loss of weight due to sechoiring
4. Raw silk obtained
5. Renditta
- 6 Denier
- 7 Tensil strength
8. Number of breaks due to sechoiring
- 9 Mortality percentage of the pest.

For the control of the infestation in the empty godowns before stocking the sechoired cocoons, the godowns were sprayed with 0.24% Dursban - a chloropyrifos having 0,0-diethyl 0-(3,5,6 - trichlore -2 Pyridyl), phosphorothioate as an active constituent. The Dursban was recommended by Mian *et al.*, 1983, for the same pest and by Worthing (1979) for all household pests. It has got contact poisoning effect on the pest and also vapour action and showed a one hundred percent mortality.

RESULTS AND DISCUSSION

It is evident from the results obtained from both trials as are clear from the table, that all the sechoiring treatments control the pest significantly as compared to control (no sechoiring). But all the sechoiring treatments are statistically at par in controlling the pest.

It is also evident from the table that all the treatments including control differ non-significantly i.e. they are statistically at par with each other in the effect on the average loss in weight, renditta, average number of breaks during winding, average denier and average tensile strength.

Thus it is clear from the present studies that in the prevailing storage conditions of godowns of Kashmir Filature and in other states where such conditions are existing, it is not possible to use highly volatile fumigants/insecticides as reported by Yokayama (1962); Metcalf and Flint (1962) and Jensen and Holdway (1946) for control of *Dermestes* infestation.

The control of *D. Cadeverinus* Fab. on the infested cocoons can therefore be achieved on a large scale by sechoiring at 40 ± 2 °C for a period of 1/2 hour ± 5 minutes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are highly thankful to Prof. A. AHMED, Vice Chancellor SK University of Agricultural Sciences and Technology and Dr. C.K. ATAL, Director Regional Research Laboratory Jammu for their keen interest and constant guidance. The authors are also thankful to Mr. KOUL of Silk Conditioning and Testing house (Central Silk Board) Srinagar and his staff for their help in completion of the necessary tests.

REFERENCES

- JENSEN D.D., HOLDWAY F.G. (1946), J. Econ. Ento., 39, 283.
 METCALF C.L., FLINT W.P. (1962), Destructive and useful insects and their habits and controls, McGraw-Hill Book Comp. Inc., 44th Ed., 917-918.
 MIAN G.R., MUNSHI N.A., NIGHAT M. (1983), Ann. Rept. Division of Sericulture, Mirgund, Kashmir.
 ULLAL S.R., NARASIMHANNA M.N. (1981), Handbook of practical Sericulture, Central Silk Board, Bombay, India, 2nd Ed., 195-196.
 WORTHING C.R. (1979), The pesticide manual, British Crop Protection Council, 6th Ed., 119.
 YOKOYAMA T. (1962), Synthesized science of sericulture, Central Silk Board, Bombay, India, 1st Ed., 150-151.

LUTTE A GRANDE ECHELLE CONTRE *DERMESTES CADEVERINUS* FABRICIUS INFESTANT LES COCONS DE *BOMBYX MORI* (L.)

S.K. CHOWDHARY*, N.A. MUNSHI, M.Y. GHANI & S. MATHU*

Division of Sericulture, S.K University of Agricultural Sciences and Technology, Mirgund,
Kashmir, Inde.

Des cocons de B. Mori (L.) infestés par D. Cadeverinus Fab. ont été soumis à des traitements à diverses températures de séchage (traitement à l'air sec et froid). On a pu observer une mortalité de 100 % même à $40 \pm 2^\circ \text{C}$ durant 1/2 heure. Aucun effet significatif n'a été obtenu en ce qui concerne la perte de poids et les différents caractères de dévidage étudiés à des températures variables et pendant des durées différentes.

INTRODUCTION

Durant la dernière récolte en saison sèche, on a pu observer une grave infestation de *Dermestes cadeverinus* Fabricius sur les cocons dans les comptoirs de la Filature du Cashmire et dans les entrepôts des villages. Ce parasite cause d'importants dommages aux cocons en les perçant afin de se nourrir des nymphes, les rendant ainsi inutilisables pour le dévidage. On a pu remarquer que le parasite se nourrissait également de cuir, fourrure, poisson séché, moquette et autres matériaux laineux et soyeux (Ullal et Narasimhanna, 1981).

Les immenses entrepôts de la Filature du Cashmire, qui mesurent $425' \times 56' \times 28'$, sont couverts sur les murs de toiles métalliques perforées pour l'aération. Il n'a pas été possible d'utiliser des fumigants tels que le bromure de méthyle ou la chloropicrine comme conseillé par Yokoyama (1962), Metclaf et Flint (1962). De plus, l'usage du D.D.T. recommandé par Jensen et Holdway (1946) n'a pas non plus été possible en raison de ses effets résiduels, pas plus qu'un traitement à l'air chaud ni à l'intérieur de l'immense comptoir ni dans les maisons des éleveurs, principalement faites de pisé. On a donc choisi, pour cette étude la méthode du séchage (traitement à l'air chaud et sec) pour contrôler cette infestation.

MATERIELS ET METHODES

On a utilisé cinq températures pour le séchage des cocons infestés, à savoir $40 \pm 2^\circ \text{C}$, $50 \pm 2^\circ \text{C}$ et $60 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant des durées variables, c'est-à-dire $1/2 \text{ h} \pm 5 \text{ minutes}$ et $1 \text{ h} \pm 5 \text{ minutes}$. Le séchage a été effectué dans l'usine à séchage de la Filature de Cashmire (la taille de chaque four étant de $3' \times 3' \times 4'$). On a pris trois réplifications pour chaque traitement et chacune des réplifications était composée de 10 kgs de cocons secs infestés. De plus, on a gardé trois réplifications comme témoins sur lesquelles aucun séchage n'a été pratiqué. On a déterminé le niveau d'infestation des stocks de cocons sélectionnés pour l'expérience par échantillonnage au hasard : le niveau d'infestation s'élevait à 6,5 % pour les lots traités et non-traités dans le premier essai et à 4,8 % dans le deuxième essai

* Adresse actuelle : Regional Research, Laboratory, Srinagar.

lorsque l'expérience a été répétée pour comparer les résultats. Afin d'évaluer le pourcentage de mortalité du parasite aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des cocons ainsi que l'effet sur la qualité et la quantité de la soie, les paramètres suivants ont été établis. Pour l'étude des paramètres 4 à 8, 2 kgs de cocons séchés ont été enlevés de chaque réplication dans les deux essais.

1. Température de séchage des cocons.
2. Temps de séchage des cocons.
3. Perte de poids due au séchage.
4. Soie grège obtenue.
5. Rendement à la bassine.
6. Denier.
7. Limite élastique à la traction.
8. Nombre de cassures dues au séchage.
9. Pourcentage de mortalité du parasite.

Pour contrôler l'infestation dans les entrepôts vides avant stockage des cocons séchés, on a répandu dans les entrepôts 0,24 % de Dursban - chlorpyrifos contenant du 0,0 diéthyle 0 - (3,5,6 - trichlore - 2 pyridil) phosphorothioate comme composant actif. Le Dursban a été recommandé par Mian *et al.*, (1983) pour le même parasite et par Worthing (1979) pour tous les parasites domestiques. Ce produit agit par effet de contact en empoisonnant le parasite et dégage de la vapeur ; il donne une mortalité de 100 %.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus dans les deux essais montrent clairement, ainsi qu'on peut le constater sur le tableau, que tous les traitements de séchage maîtrisent le parasite de manière significative par rapport au témoin (sans séchage). Cependant, tous les traitements de séchage sont statistiquement équivalents dans la lutte contre le parasite.

Le tableau met également en évidence le fait que tous les traitements, y compris le témoin, diffèrent de manière non-significative, c'est-à-dire qu'ils sont statistiquement semblables en ce qui concerne la perte moyenne de poids, le rendement à la bassine, le nombre moyen de cassures pendant le dévidage, le denier moyen et la limite élastique moyenne à la traction.

Il est donc clair d'après notre étude que, dans les conditions de stockage existant dans les entrepôts de la Filature de Cashmire et d'autres états où les conditions de stockage sont identiques, il n'est pas possible d'utiliser de fumigants/insecticides ainsi que le proposent Yokoyama (1962), Metclaf et Flint (1962) et Jensen et Holdway (1946) dans la lutte contre l'infestation par *Dermestes*.

En conclusion, la lutte contre *D. Cadeverinus* Fab. sur les cocons infestés peut être réalisée à grande échelle par séchage à $40 \pm 2^{\circ}$ C pendant une durée d' $1/2 \pm 5$ minutes.

PEROXIDASE ISOZYME BANDING PATTERNS IN ANEUPLOIDS OF MULBERRY

M. VENKATESWARLU, B.N. SUSHEELAMMA, N. SURYANARAYANA N.K. DWIVEDI
and K. SENGUPTA*

Mulberry breeding and Genetics Section, Central Sericultural Research and Training Institute,
Srirampuram, Mysore, 570 008, India.

Three primary trisomic plants were isolated from triploid populations raised from the crosses between autotetraploid S₄₁ and diploid cultivars viz. K₂ and RFS-135 in mulberry. These trisomic plants varied morphologically from the parents. Leaf peroxidase isozyme banding patterns of the parents and trisomic plants were studied. The significant changes were observed in banding patterns and in their R_f values. The possible relationship between the peroxidase pattern and plant morphology is discussed.

INTRODUCTION

One of the important uses of electrophoretic techniques is to assess genetic similarities among two or more populations which are having common parentage (Bassiri, 1977). Several workers have studied the peroxidase activity and isozyme patterns in different crop plants (Hirano and Wada, 1975; Hirano and Naganuma, 1979; Hirano, 1980; Hirano *et al.*, 1980; Talysdhinskii, 1982; Hart, 1983; Sheen 1983, Sumardjito *et al.*, 1983; Venkateswarlu, 1986, Bosch *et al.*, 1987, de Kochko, 1987; El-Ghamriny *et al.*, 1987;.. Ellen Kay and Basile, 1987; Katagiri and Ichihshi, 1987; Suurs, 1987; Weeden and Marx, 1987).

It is clear from the perusal of literature that no study has been made on peroxidase isozymes in aneuploids of mulberry so far. Therefore, present study has been taken up to fill the gap.

MATERIAL AND METHODS

During the evolution of triploids from the crosses between S₄₁(4x) x K₂ (2x) and S₄₁ (4x) x RFS 135 (2x), three primary trisomic plants were screened and were utilized for the separation of peroxidase isozymes with gel electrophoresis apparatus GE-2/4LS connected with the electrophoresis power supply EPS 500/400, Pharmacia fine chemicals, Swedon. The polyacrylamide gel electrophoresis method of Clarke (1964) and for peroxidase enzyme staining modified Scandalios (1969) method were adopted. For the leaf peroxidase analysis the third to sixth leaf from the top were used. Each sample was run in duplicate and equal amount of enzyme extract was loaded on the top of each gel. The gels were preserved in 7% acetic acid.

* Director for correspondence

Fig. 1 - 6 Morphological characteristics of parents and trisomic plants / *Caractéristiques morphologiques des parents et des plantes trisomiques.*

Fig. 2. Twig of S₄₁ (4 x) / *Branches de S₄₁ (4 x)*

Fig. 3. Twig of K₂ / *Branches de K₂*

Fig. 4 - 6 Twigs of 1-3 primary trisomic plants respectively / *Branches de plantes trisomiques primaires 1-3*

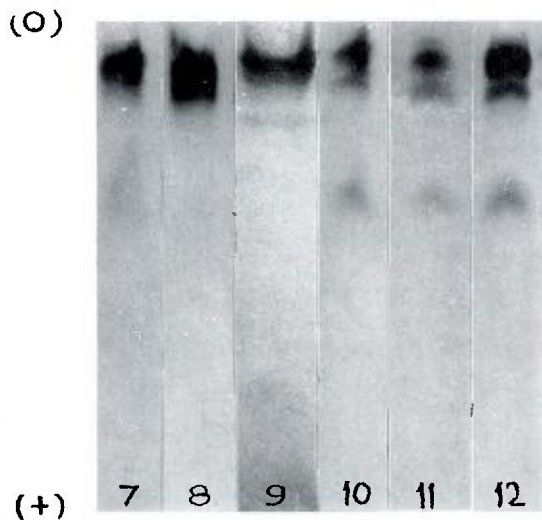


Fig 7-12 Peroxidase zymograms of parents and trisomic plants. / *Zymogrammes peroxiases de parents et de plantes trisomiques.*

Fig. 7. S₄₁ (4 x) Fig. 8. K₂ Fig. 9. RFS-135

Fig. 10 -12 1-3 trisomic plants respectively / *Plantes trisomiques 1-3*



N° N°	Taxon <i>Taxon</i>	N° of bands <i>N° des bandes</i>	Rf values <i>Valeurs Rf</i>
1	S ₄₁ 4x	1	0.09
2	K ₂	1	0.11
3	RFS-135	3	0.06, 0.10, 0.19
4.	Trisomic - 1	3	0.13, 0.19, 0.39
5	Trisomic - 2	4	0.11, 0.13 0.19, 0.38
6	Trisomic - 3	4	0.9, 0.11 0.18, 0.38

Table I. Details of number of bands and Rf values in tetraploid, diploid and trisomic plants

Tableau I. Détails du nombre es bandes et des valeurs Rf. chez les plantes tetraploides, diploides et trisomiques.

RESULTS AND DISCUSSION

The autotetraploid exhibits reduction in height, number of branches and internodal distance. The leaves are slightly thicker, coarser and dark green in colour than that of diploids (Figs. 1-3). The flowering was somewhat delayed and blooming duration was prolonged in autotetraploid. The inflorescences of tetraploids were longer in length and lax with more flowers in comparison to that of diploids.

The primary trisomic plants are dwarf in nature and with very less number of branches. The leaves are irregular in shape and light green in colour, in comparison to that of diploids and autotetraploid (Figs. 4-6). In primary trisomics, inflorescences were shorter in length with less number of flowers. Pollen grains were smaller, irregular and with poor pollen fertility, 5-10% as against 91.63% and 98.23% of K₂ and RFS-135 diploid parents respectively.

The primary trisomics, subjected along with their parents to electrophoresis showed considerable variation in number of bands and Rf values (Table 1). The K₂ (2x) and S₄₁ (4x) showed single bands (Figs. 7 & 8), but with different Rf values (Table 1). The band was thicker in var. K₂ (2x) than that of S₄₁ (4x). Diploid var. RFS-135 showed two thick and one light bands (Fig. 9). The trisomic plant-1 showed two thick and one light bands (Fig. 10), whereas that trisomic-2 and trisomic-3 showed two thick and two light bands with different Rf values (figs. 11 & 12).

The connection between peroxidase and plant hormones is supported by finding that several mutations affecting morphological characters, growth or differentiation possess abnormal peroxidase activity (Gupta and Stebbins, 1969). The dissimilarities in the zymograms of parents and primary

trisomic plants, can therefore be attributed to differential peroxidase activity. The differential activity of the peroxidase isozyme was suggested to reveal the differential function of the genes during development and differentiation (Shannon, 1968). Although the exact physiological role of peroxidase in plants is still obscure due to multiplicity of its functions, the activity of peroxidase was often correlated with growth, development and hormonal activity (Shannon, 1968). The observed variability in peroxidase banding pattern may be either the primary effect of the genes with the morphological changes as a consequence or a secondary consequence of the mutant action. In general, the occurrence of each isozyme band is controlled by a gene (Schwartz and Endo, 1966), though its intensity may be polygenic (McCune, 1961).

Considering the control mechanism acting on peroxidase, it may be mentioned that the repression or induction of specific isozymes has been reported as hormonally mediated. In present study the mutations with anomalous zymograms might be due to the presence of extra chromosome in primary trisomics or/and with genetic variation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Dr. M.S. Jolly, (Ex-Director, CSR&TI, Mysore) for his constant encouragement and to Dr. S.N. Chatterji, Deputy Director, Central Instrumentation, CSR&TI, Mysore and Shri A.K. Sikar, Deputy Director, NSSP, Madanapalle for their good co-operation. The authors are also thankful to Shri K.R. Chandrasekhar for photography.

REFERENCES

- BASSIRI A. (1977), Identification and polymorphism of cultivars and wild ecotypes of Safflower based on isozyme patterns, *Euphytica*, 26, 709-719.
- BOSCH A. VEGA C. and BENITO C. (1987), The peroxidase isozymes of the wheat kernel; tissue and substrate specificity and their chromosomal location. *Theor. Appl. Genet.*, 73, 701-706.
- CLARKE J.T. (1964), A simplified disc electrophoresis technique; *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 428.
- DE KOCHKO A., (1987), Isozymic variability of traditional rice (*Oryza sativa* L.) in Africa. *Theor. Appl. Genet.*, 75, 675-682.
- EL-GHAMRINY, E.A. SINGH N. and VERMA V.K. (1987), Response of peroxidase isozymes to chemical sex modification in cucumber (*Cucumis sativus* L.) *Curr. Sci.*, 56, 614-616.
- ELLEN KAY L. and BASILE V. (1987), Specific peroxidase isozymes are correlated with organogenesis. *Pl. Physiol.*, 84, 99-105.
- GUPTA V. and STEBBINS G.L. (1969), Peroxidase activity in hooded and awned barley at successive stages of development. *Biochem. Genet.*, 3, 15.
- HART G.E., (1983), Hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell), in: S.D. Tanksley & T.J. Orton (Eds.) *Isozymes in plant genetics and breeding. Part B*, Elsevier, Amsterdam, 35-36.
- HIRANO H. (1980) Thematological studies of protein variation in mulberry. *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, 28, 67-186.
- HIRANO H. INOKUCHI T. and NAKAJIMA T. (1980), Relationships between amino acid contents and peroxidase isozymes in leaf blades of mulberry (*Morus* spp.), *Euphytica*, 29, 145-153.
- HIRANO H. and NAGANUMA K. (1979), Inheritance of peroxidase isozymes in mulberry (*Morus* spp.) *Euphytica*, 28, 73-79.
- HIRANO and WADA M. (1975) Peroxiase isozymes in Colchicine treated mulberry. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 44, 495-496.
- KATAGIRI K. and ICHIHSHI T. (1987) Anodal peroxiase isozyme banding patterns in *Morus acidosa* GRIFF, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 56, 124-126.
- MCCUNE D.C. and GALSTON A.W. (1961), Multiple peroxidases in corn. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 94, 723-730.
- SCANDALIOS J.G. (1969), Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. *Biochem. Genet.*, 3, 37-39.

SCHWARTZ . and ENDO T. (1966), Alcohol dehydrogenase polymorphism in simple and compound loci., *Genetics*, 53, 709-715.

SHANNON L.M. (1968), Plant isozymes. *Pl. Physiol.*, 19, 187-210.

SHEEN S.J. (1983), Tobacco. In S.D. Tanksley & T.J. Orton (Eds). *Isozymes in plant genetics and breeding*; Part B. Elsevier, Amsterdam, 203-227.

SUMARDJITO Z., KATAGIRI K., HIRANO H., MATSUTA N., NAKAJIMA K. and KITAURA K. (1983), Morphological and biochemical differences among four mulberry species from Java, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 52, 198-202.

SUURS, L.C.J.M. (1987), Routine large scale electrophoresis for plant breeding. An example with F₁ seeds of brussels sprouts (*Brassica oleracea* Var. *gemmifera*). *Euphytica*, 36, 147-151.

TALYSHINSKII G.M. (1982) Banding patterns of proteins in the leaves of polyploid male forms of mulberry. *Dokl. An. Azssr.*, 38, 62-64.

VENKATESWARLU M., (1986), Mutagenic studies on *Catharanthus roseus* (L), G. Don Ph. D. Thesis, Kakatiya University. Warangal, India.

WEEDEN N.F. and MARX G.A. (1987), Further genetic analysis and linkage relationships of isozyme loci in the pea, confirmation of the diploid nature of the genome. *The J. Heredity* 78, 153-159.

EQUIPEMENT EN ISOZYMES DE LA PEROXYDASE CHEZ DES MURIERS ANEUPLOIDES

M.VENKATESWARLU, B.N. SUSHEELAMMA, N. SURYANARAYANA, N.K.DWIVEDI.
et K. SENGUPTA.

Mulberry breeding and Genetics Section, Central Sericultural Research and Training Institute,
Srirampuram, Mysore, 570 008, Inde.

Trois plants primaires trisomiques de mûrier ont été isolés des populations triploïdes nées des croisements entre des cultivars autotétraploïdes S41 et diploïdes, à savoir, K2 et RFS-135. Ces plants trisomiques diffèrent morphologiquement des parents. On a étudié le profil électrophorétique des isozymes de la peroxydase des parents et des plantes trisomiques. Des changements significatifs ont été observés sur les profils électrophorétiques et les valeurs de Rf. La relation possible entre l'équipement en peroxydase et la morphologie de la plante est discutée.

INTRODUCTION

Une des utilisations les plus importantes des techniques électrophorétiques est d'évaluer les similitudes génétiques parmi deux populations ou plus ayant les mêmes origines (Bassiri, 1977). Plusieurs chercheurs ont étudié l'activité de la peroxydase et les divers isozymes sur différentes plantes cultivées (Hirano et Wada 1975, Hirano et Naganuma 1979; Hirano 1980; Hirano et coll. 1980; Talyshinskii, 1982; Hart, 1983; Sheen, 1983; Sumardjito et coll. 1983; Venkateswarlu, 1986; Bosch et coll., 1987; de Kochko, 1987; El-Ghamriny et coll. 1987; Ellen Kay et Basile, 1987; Katagiri et Ichihshi, 1987; Suurs, 1987; Weeden et Marx, 1987). Un examen attentif montre clairement qu'aucune étude n'a été faite sur les isozymes de la peroxydase chez les mûriers aneuploïdes. Cette étude a été entreprise pour combler cette lacune.

MATERIELS ET METHODES

Durant l'évolution des triploïdes provenant des croisements entre S41 (4x) x K2 (2x) et S41 (4x) x RFS-135 (2x), trois plants trisomiques primaires ont été sélectionnés et utilisés pour la séparation des isozymes de la peroxydase par l'utilisation du matériel d'électrophorèse GE-2/4LS relié au générateur EPS 500/400 de Pharmacia Fine Chemicals, Suède; on a adopté la méthode d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide de Clarke (1964) et pour la coloration de l'enzyme la méthode de Scandalios modifiée (1969). En ce qui concerne l'analyse de la peroxydase chez les feuilles, on a utilisé de la troisième à la sixième feuille en partant du haut. Chaque échantillon a été déposé en double sur l'électrophorèse et une quantité égale d'extrait enzymatique a été déposée sur chaque gel. Les gels ont été conservés dans l'acide acétique à 7%.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'autotetraploïde montre une réduction de la hauteur et du nombre des branches ainsi que de la distance internodale. Les feuilles sont un peu plus épaisses, de texture plus grossière et d'un vert plus foncé que chez les diploïdes. (Figs 1-3) La floraison est quelque peu retardée et la durée du bourgeonnement est plus longue chez les autotetraploïdes. Les inflorescences sont plus longues et comportent plus de fleurs que celles des diploïdes.

Les plantes trisomiques primaires sont naines de nature avec très peu de branches, les feuilles sont de forme irrégulière et de couleur vert pâle par rapport à celles des diploïdes et des autotetraploïdes (Figs 4-6). Sur les plantes trisomiques, les inflorescences sont plus courtes avec moins de fleurs. Les grains de pollen sont plus petits, irréguliers et peu fertiles, 5-10% contre 91,63% et 98,23% chez K2 et RFS-135 les parents diploïdes respectifs.

Les plantes trisomiques primaires soumises avec leurs parents à une analyse électrophorétique montrent une variation considérable des valeurs de Rf. et du nombre de bandes (Table I), K2 (2x) et S41 (x4) donnant des bandes uniques (Figs 7-8) mais avec différentes valeurs de Rf. (Table I). La bande est plus épaisse chez la variété K2 (2x) que chez S41 (4x). La variété diploïde RFS-135 montre deux bandes épaisses et une fine (Fig.9). La plante trisomique 1 donne deux bandes épaisses et une fine (Fig. 10) alors que les plantes trisomiques 2 et 3 donnent deux bandes épaisses et deux fines avec des valeurs de Rf. différentes (Fig.11-12).

La liaison entre la peroxydase et les hormones des plantes est étayée par le fait que plusieurs mutations qui affectent les caractères morphologiques, la croissance, ou la différenciation, engendrent une activité de peroxydase anormale (Gupta et Stebbins 1969). Les différences sur les zymogrammes des parents et des plantes trisomiques primaires peuvent alors être attribuées à l'activité différentielle de la peroxydase. Il a été suggéré que l'activité différentielle des isozymes de la peroxydase correspond à l'activité différentielle des gènes durant le développement et la différenciation (Shanon, 1968). Bien que le rôle physiologique de la peroxydase sur les plantes soit encore obscure, du fait de la multiplicité de ses fonctions, l'activité de la peroxydase a souvent été liée à la croissance au développement et à l'activité hormonale (Shanon, 1968). La variabilité observée dans le profil électrophorétique de la peroxydase pourrait bien être l'effet primaire des gènes avec les changements morphologiques comme conséquence ou une conséquence secondaire de l'action mutante. En général la présence de chaque bande d'isozyme est contrôlée par un gène (Schwartz et Ando, 1966) et son intensité d'origine polygénétique.

Si l'on considère le mécanisme de contrôle qui agit sur la peroxydase, il faut préciser que la répression ou l'induction d'isozymes spécifiques a été envisagée comme étant sous la dépendance d'un médiateur hormonal. Dans cette étude, les mutations donnant des zymogrammes anormaux pouvaient être dues à la présence d'extra chromosomes, chez les trisomiques primaires ou/et à une variation génétique.

ANNUAL RYTHM OF SHIFTING OF SYMPTOMS AND PATHOGENICITY WITHIN AN INDIVIDUAL MULBERRY DWARF DISEASED TREE

YE YUAN BEI and GU BAO-LIN

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City, Jiangsu Province, China.

During dormant season, mulberry dwarf diseased shoots including those that had shown most serious symptoms in the past growing season lost their pathogenicity if they were cut to be used as scions. This is significant when postulating plant quarantine regulations. It was not until May or June that the infected shoots began to show current year symptoms and to be pathogenic. Infected, yet latent, seedlings were the only source of primary infection in the nursery of mulberry saplings and this is invariably overlooked when we adopt the conventional grafting method.

Keywords : Mulberry dwarf disease, Mycoplasma-like organism, Plant Quarantine.

INTRODUCTION

Mulberry dwarf disease caused by mycoplasma-like organisms (Ishii *et al.*, 1967), is reputedly known as a systemic disease. About three and a half centuries ago, this disease was known to be infectious and incurable (Shen, 1644). The original purpose of Experiment 1 was merely intended to find the cause of the natural phenomenon that on some mulberry trees only some shoots show mulberry dwarf disease symptoms while other shoots growing even on the same tree are still healthy. Does it mean that the pathogen are only distributed in those shoots which show symptoms.

EXPERIMENT 1

Materials and methods

Two diseased trees on which every shoot showed serious disease symptoms and two other diseased trees on which only some shoots showed disease symptoms, the remaining shoots being healthy. During late March of the year 1968, these four overwintered mulberry trees were taken up from the ground, by eroding the soil around them with water-jet instead of digging them up with spade in order to keep their root system intact, and were separately sectioned, including their shoots, branches, trunks, collars, roots and root hairs, into the smallest possible sections that could still be propagated by different grafting methods. And as we guessed, the pathogens, if any, might also be partitioned into and be contained in many isolated sections by this sectioning process just before the sap of these four trees began to "circulate". All these sections were then grafted (Fig. 1-4). Shoot sections (scions) were grafted on stubs (stocks) of seedlings by using pocket grafting method (Fig. 1). Branch and trunk sections were grafted with roots from healthy mulberries by using "skin peeling grafting" method (Fig. 2), while root sections were pocket grafted (Fig. 3A) or root grafted (Fig. 3B) with scions from healthy mulberry shoots. All these grafted sections were so serially planted on the plots that we might still know their original serial position on their mother trees. So, the presence of the pathogens, if any, within these sections could reflect the original distribution of the pathogens within their respective mother trees and could be proved by disease symptoms shown by the growing saplings grown from these grafted sections. As to the natural phenomenon said above, what concerned

Figures of different grafting methods / *Shémas des différentes méthodes de greffage*

Four mulberry dwarf diseased trees were separately sectioned, including their shoots, branches, trunks, collars, roots and root hair, into the smallest possible sections that could still be propagated by different grafting methods.

Quatre mûriers nains contaminés ont été taillés séparément, rejets, branches, troncs, collets, racines et radicelles y compris, en sections les plus petites possibles permettant la propagation par greffage.

Figure 1. Shoot sections (scions) were grafted on stubs (stocks) of seedlings by using pocket grafting method.

Figure 1. Des sections de rejets (scions) ont été greffés sur des souches (troncs) de jeunes plants par la méthode de greffage en couronne.

Figure 2. Branch and trunk section were grafted with roots from healthy mulberries by using 'skin peeling grafting' method.

Figure 2. Des sections de branches et tronc ont été greffés avec des racines de mûriers sains par la méthode de "greffage épidermique".

Figure 3. Root sections were pocket grafted (Fig. 3A) or root grafted (Fig. 3B) with scions from healthy mulberry shoots.

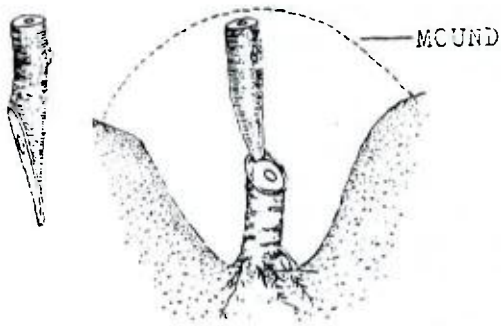
Figure 3. Des sections de racines ont été greffées en couronne (Fig. 3A) ou greffées (Fig. 3B) avec des scions de pousses de mûriers sains.

Figure 4. Collar sections were grafted with healthy scions.

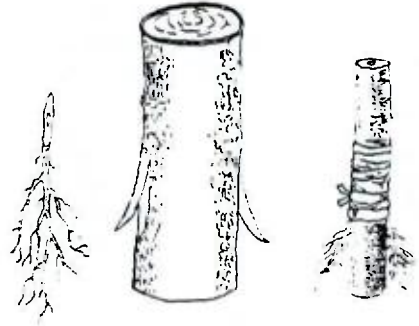
Figure 4. Des sections de collet ont été greffés avec des scions sains.

Figure 5. During growing season, we use the 'tube grafting' method to graft 'tubes' (scions) from diseased trees (Fig. 5A) onto healthy shoots (stocks) of healthy trees (Fig. 5B).

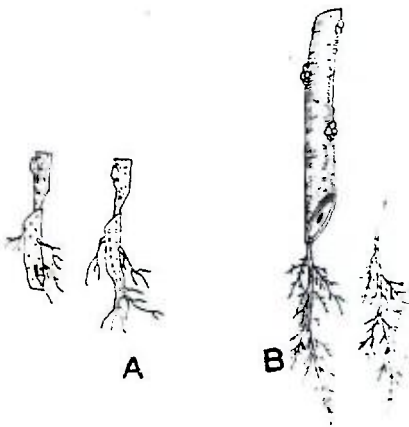
Figure 5. Pendant la période de croissance, nous utilisons la méthode de greffage en placage d'écorce pour greffer des "tubes" (scions) d'arbres malades (Fig. 5A) sur des pousses saines (troncs) d'arbres sains (Fig. 5B).



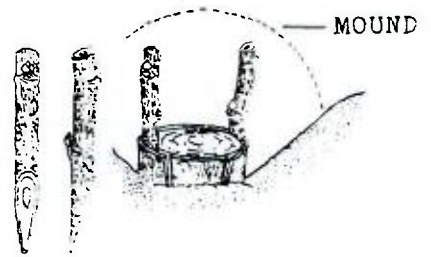
1



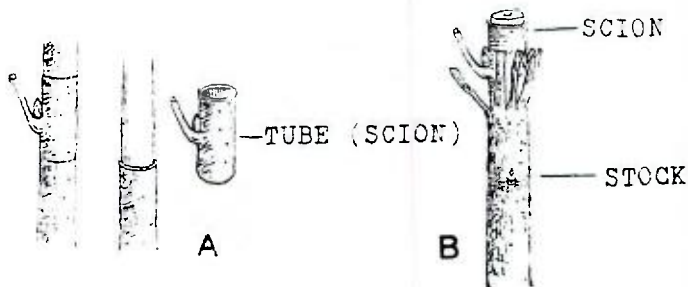
2



3



4



5

us was to see whether the saplings grown from 216 sections (i.e. scions) sectioned from 39 diseased shoots would show disease symptoms and whether those saplings grown from 197 sections sectioned from 14 healthy shoots would still be healthy.

Results

1) The percentages of the diseased saplings grown from the sections sectioned from the diseased shoots and from the healthy shoots were 12 % and 6 % respectively. But the difference between these 2 numerals, 12 and 6, could not be construed as if the diseased shoots were more virulent than healthy shoots, because we found that a) The sections even sectioned from seriously diseased shoots, the axillary buds on which were just like tiny 'pagodas', could invariably grow into healthy saplings all through the growing season. b) There were many instances in which a certain section, no matter whether they were sectioned from a healthy or diseased shoot, grew into a healthy sapling but the next serial section from that same shoot grew into a diseased sapling and still next serial section also grew into a healthy sapling. It could not be explained by the hypothesis that on the same shoot there could be a virulent bud between two adjacent healthy buds. The erratic distribution of the diseased saplings puzzled us.

2) Among the 167 grafted sections sectioned from trunks, branches, collars and roots, only 50 sections survived as living saplings. And among these 50 survived samplings, only 3 saplings grown from originally healthy scions grafted on collar sections (Fig. 4) showed typical disease symptoms, the other 43 saplings grown from root and root hair sections and 4 saplings from trunk and branch sections were all healthy.

3) The usual practice of grafting is to insert (i.e. to graft) scions into the stocks during early April immediately after the stems of the seedlings are cut back to be used as stocks (Fig. 1) and the seeds of these seedlings were usually sown in last spring or in last summer. But in this year we had, as experiment materials, only those seedlings the seeds of which were sown in spring of the year before last. Fortunately, we did not insert any scions onto a certain plot though the seedlings on that plot had already been cut back, because at that time we found we had already had enough grafted plots to carry out our experiments and that un-grafted plot was a surplus one, being left there. This casually led us to a useful discovery that after new shoots and leaves sprouted from these cut back seedlings, some of these seedlings did show typical mulberry dwarf disease symptoms.

From above findings we inferred that: 1) During dormant season diseased shoots might have lost their pathogenicity. 2) Cutting back might hasten the infected, yet latent, individuals to manifest their disease symptoms. 3) The stocks might be the only source of infection, while we adopt the conventional method of grafting.

EXPERIMENT 2

In spring of the year 1969, in order to verify the inference we had inferred last year, we allotted 3 plots of mulberry seedlings, the seeds of which were sown in last spring. On April 30, we adopted the conventional grafting method to insert (i.e. to graft) 142 diseased scions onto 142 stocks immediately after these seedlings on the 1st plot had just been cut back. According to the investigation made eighty days later, 96 % of these diseased scions grafted grew into healthy saplings.

All the mulberry seedlings on the 2nd and 3rd plots were cut back on April 18 without inserting any scions onto them. On May 14, when new sprouts had sprung up from these cut back seedlings, it was then obvious which seedlings were diseased ones.

Among 77 cut back seedlings on the 2nd plot with no scions on them, no outwardly diseased individual was found on May 14. Till June 30 (or about seventy days after cutting back), 2 of these seedlings became diseased and other two also became diseased on July 19 (or about ninety days after cutting back).

On May 14, when there were 8 diseased seedlings out of 173 seedlings on the 3rd plot, 4 of these 8 diseased stocks were grafted with diseased scions and the other 4 diseased stocks were grafted with healthy scions. It was proved afterwards that no matter whether healthy or diseased scions were used, they invariably grew into diseased saplings.

On the rest 165 (173 - 8) healthy stocks on 3rd plot, we grafted on May 14, 91 diseased scions and 74 healthy scions. In mid-July or about two months later, 99.8 % of the 165 (91 + 74) scions grafted grew into healthy saplings. Only two of the diseased scions grew into diseased saplings.

From above, we could see:

Diseased stock would invariably breed diseased saplings no matter what kind of scions, healthy or diseased, were grafted.

From 2nd plot, we knew the percentage of the diseased seedlings (stocks) in April in this area was about 5 % and after being cut back, the infected seedlings would manifest their disease symptoms not at once but successively as time went on, from 0 % up to around 5 %.

This might account for that there were still small percentages of diseased individuals among healthy saplings on the 1st plot and on the 3rd plot. These diseased individuals were grown from the diseased scions grafted on then healthy stocks (as on the 3rd plot) or on those stocks we had not tested whether they were healthy or diseased by previously cutting them back (as on the 1st plot).

So, were there any diseased saplings among healthy ones, it was the stocks, rather than the scions, that were pathogenic.

Those stocks on the 3rd plot, while they were being grafted on May 14 with 91 diseased scions, were healthy as proved at that time by new sprouts grown after cutting them back on April 18; so we had already ruled out the possibility of pathogenic stocks. But, why did 2 of these 91 grafted saplings become diseased afterwards?

There might be 3 possibilities: 1) As we had seen from the 2nd plot, the infected seedlings after being cut back would manifest their symptoms not at once but successively. The fact that while grafting on May 14, these 2 cut back seedlings were still healthy does not exclude the possibility that it these 2 cut back seedlings had not been immediately grafted with scions, they might also have shown disease symptoms during mid-July as the 2 said saplings did. So it might be that it was through these 2 delayed symptom-expressing diseased seedlings (stocks) that the 2 saplings were infected. 2) The scions themselves of these 2 saplings contained pathogens. 3) Newly inoculated by the insect vectors. The first possibility was more likely to be true. The other 2 possibilities were very slim, because the grafted diseased scions gave no higher percentage of the diseased saplings than 5 %, the highest percentage of diseased cut-back seedlings (stocks) in this area if the seeds of these seedlings were sown last spring and because some saplings grown from healthy scions grafted on diseased stocks would show disease symptoms as soon as their bud-shoots just popped out from the soil mound (Fig. 1), i.e. before they had any chance to get into contact with insect vectors.

Through other experiments (Ye *et al.*, 1968-1971), we concluded that cell sap or juice exuded from the wounded dwarf diseased mulberries and the seeds collected from the dwarf diseased mulberries are not infectious. So, contact and trans-embryonic transmission of the pathogens are impossible. An healthy mulberry, after being transplanted into a soil pit from which a dwarf diseased mulberry had just been dug out, will always be healthy if no vector insect intervene. So, while grafting, no outside contamination is possible. The only ways of transmission of this disease are through the specified species of vector insects or through the newly set up vascular tissue connecting scions and stocks if any one of these two was originally an infected one.

The cause of the difference between the percentages of the diseased individuals of the seedlings we used in 1968 and in 1969 (9.2 % and 5 % respectively) might be that the longer the seedlings were exposed to insect vectors, the higher the percentage of the diseased individuals would be. The seedlings we used in 1968 had been growing in the field for 2 years, so they had more chances to get into contact with insect ventors than those we used in 1969 which had been growing in the field for only 1 year. Red and green headed rhombic marked leafhoppers (unidentified) indigenous to China are the only agents that transmit the pathogens between individual mulberry plants (Ye *et al.*, 1968-1971; Gu *et al.*, 1972-1973).

EXPERIMENT 3

From above experiments, we knew most of the diseased scions grafted onto healthy stocks would grow into healthy saplings, only if the scions were cut from their diseased mother trees during the time when the trees were dormant during cold season. That is to say, during dormant season, the

diseased shoots (scions) were non-pathogenic. How would it be if the diseased scions were cut and grafted during June, the time when their mother trees had shown current year disease symptoms on shoots,

Because at that time it was growing season, we had to adopt 'tube grafting' method (Fig. 5). 37 diseased 'tubes' were grafted onto healthy trees on June 19, 1986. According to the investigation made on August 21, 25 tubes were dead, 12 tubes grew into diseased shootlets and some healthy shoots of the stock trees were also infected and showed disease symptoms.

Symptoms of this disease are: Axillary buds precociously sprang up. Internodes of the distal part of the shoots and of the axillary shootlets are short, even as short as 1 mm. Leaf size may be dwindled to around 2 mm. in diameter. Next spring, newly sprouted leaves growing on such diseased trees are of normal size; no symptom can be seen from these new green growths, though they are growing on the diseased trees of the preceding year. It was not until May or June that the current year symptoms appeared again on the shoots and it was then that the shoots began to be infective or pathogenic.

DISCUSSION

The experiment was carried out in the regions of Zhenjiang, Jiangsu Province, during 1968-69 and 1986. In late March, both aerial and underground parts, i.e. shoots, branches, trunks, collars and roots, of 4 diseased trees were sectioned to the smallest possible sections that could still be propagated by different methods of grafting. It was found only saplings grown from collar-sections grafted with healthy scions showed typical disease symptoms; while other sections even including sections sectioned from such shoots as had shown most serious disease symptoms in previous year, grew into healthy saplings on healthy stocks. Therefore we may infer that during dormant period the pathogenicity was preserved only in collars of the diseased trees and that during growing season both pathogenicity and symptoms were shifting slowly upwards. And this hypothesis is supported by the fact that, in natural condition, the trees which showed even serious disease symptoms in the previous year won't show disease symptoms before May or June of the current year. It was only after the pathogenicity and symptoms had shifted up to the shoots that the 'tubes' from these shoots began to be infective (Fig. 5B). And this hypothesis also conforms to the results of histopathological studies on dwarf diseased mulberries by using electron microscope, carried out by Kawakita (1977 and 1985). His results were: "The number of mulberry dwarf mycoplasma-like organisms (MDM) in twig tissues began to decrease from defoliation time and became undetectable after January in cultivars Ichinose and February in Hachijo-guwa. In root-tissues, however, MDM could be observed always in winter." (Kawita, 1977). And in a test during winter, the dwarf diseased mulberries were kept at the temperatures of 20-30° C (in a green house) and in 27° C (in a growth cabinet) and the artificial light were used to add 3 additional hours to the day-length, then, the pathogen, MDM, could still propagate in winter time in the diseased mulberries as it would in summer time (Kawakita, 1985).

A mulberry seedling, if it is pathogen infected and though outwardly still healthy, may be identified early as an infected one simply by cutting it back.

Symptoms will become pronounced as the new growth comes out from this cut stem. If we grafted scions, no matter whether healthy or diseased, onto these infected stocks, the resultant saplings were all diseased ones.

Mulberry sapling producers conventionally graft the scions onto the stocks immediately after the seedlings are cut back to be used as stocks. There is no time interval for the new growth to come out. So, the pathogen infected seedlings cannot be identified.

Because scions are usually cut away from their mother trees around February in dormant season; stocks, rather than scions, play an important role in the dispersal of this disease. These findings are significant when we postulate plant quarantine regulations for this disease.

REFERENCES

GU B.L., S.R. DUN and L.D. TIAN, (1972-1973), Studies on mulberry dwarf disease, Annual Reports of Research Works of the years from 1972 to 1973. The Sericultural Research Institute., The Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City, Jiangsu Province, China.

ISHIIE T., Y. DOI, K. YORA and H. ASUYAMA, (1867), Suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of mulberry dwarf disease. *Ann. Phytopathol., Soc. Japan*, 33, 267-275.

KAWAKITA H., (1977), Electron microscopic studies on the mulberry dwarf disease. II. Seasonal differences of a causal agent, mycoplasma-like organism, in the tissues of infected mulberry plant. *J. Sericult. Sci. Japan*, 46(5), 404-410., The Sericultural Experiment Station, Suginami-ku, Tokyo.

KAWAKITA H. (1985), The relation between the symptomatology and the causal agents of mulberry dwarf disease in green houses during winter time (in Japanese), *Anthology of the 55th Symposium of the Japanese Society of Sericultural Sciences*, 12.

SHEN ?, (1644) (An anonymous author, only his surname is known), *An essay on Agriculture*. Supplemented in 1658 by Zhang Lu-qiang. From the book "Researches on Supplemented Mr. Shen's Essay on Agriculture", 230. Compiles by Chen Hen-li, published in 1958 by Zhong-Hua Press, Beijing.

YE Y.B., GU Z.F., SHIU L.H. and CHEN P.G., 1968-1971. The ways of transmissions of the causal organisms of mulberry dwarf disease. *Annual Reports of Research Works of the years from 1968 to 1971*. The Sericultural Research Institute, The Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City, Jiangsu Province, China.

RYTHME ANNUEL DES SYMPTOMES ET DE LA PATHOGENICITE CHEZ UN MURIER ATTEINT DE NANISME.

YE YUAN BEI et GU BAO-LIN

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang City, Jiangsu Province, CHINE.

Pendant la saison morte, les rameaux de mûriers nains malades ainsi que les rameaux ayant présenté de sérieux symptômes la saison précédente perdent leur pathogénicité s'ils ont été coupés pour être utilisés comme scions (greffons). Ceci est significatif lorsqu'il s'agit des plantes en quarantaine ; ce n'est pas avant mai ou juin que les pousses commencent à montrer les symptômes habituels et à être pathogènes. Les semis contaminés sont la seule source d'infection primaire chez les jeunes mûriers, et l'on peut faire invariablement cette constatation lorsque l'on adopte la méthode de greffage conventionnelle.

INTRODUCTION

La maladie du mûrier nain provoquée par un organisme du type mycoplasme, (Ishii et coll. 1967), est reconnue comme étant une maladie systémique. Il y a environ trois siècles et demi cette maladie était infectieuse et incurable (Shen 1644). Le but original de l'expérience 1 était en quelque sorte de trouver la cause du phénomène naturel qui faisait que certaines pousses seulement sur les mûriers montraient des symptômes de la maladie du mûrier nain alors que d'autres poussant sur le même arbre étaient saines. Cela veut-il dire que le pathogène n'est présent que sur les pousses qui montrent des symptômes ?

PREMIERE EXPERIENCE

MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été faite sur deux arbres contaminés sur lesquels chaque rameau montrait des symptômes sérieux de contamination, et deux autres arbres sur lesquels quelques pousses seulement montraient des symptômes les autres étant saines. Vers la mi mars 1968, ces plants de mûrier ont été déterrés en creusant le sol tout autour d'eux à l'aide de jets d'eau au lieu de les déterrer avec une pelle, afin de préserver intact leurs racines ; ils ont été taillés séparément, rejets, branches, troncs, cols, racines et radicelles y compris, en sections les plus petites possibles permettant la propagation par greffage. Les pathogènes s'ils existent, devraient être répartis et contenus dans chacune de ces sections après ce procédé, juste avant que la sève de ces quatre arbres ne commence à circuler. Toutes ces parties sectionnées ont alors été greffées (Figs 1-4). Les scions ont été greffés sur des troncs de jeunes plants en utilisant la méthode de greffe en couronne (Fig. 1). Les sections de branches et de troncs ont été greffées avec des racines de mûriers sains en utilisant la méthode de greffage épidermique

(Fig. 2), alors que les sections de racines ont été greffées en couronne (Fig. 3A) ou à la racine avec des scions de mûriers sains (Fig 3B). Toutes ces greffes ont été faites en série dans des lots précis, de telle sorte que nous connaissons leur position originelle sur les arbres souche. Ainsi donc, la présence de pathogènes, s'il y en a, sur ces scions, pourrait expliquer la distribution originale des pathogènes sur l'arbre souche et le prouver par l'existence de symptômes sur ces jeunes pousses, obtenues à partir des sections greffées. Ce qui nous intéressait dans le phénomène ci-dessus mentionné, était de voir si les jeunes plants des 216 boutures (scions) de 39 pousses contaminées pouvaient montrer des symptômes de contamination, et si les plants des 197 boutures venant des 14 pousses saines l'étaient encore.

RESULTATS

1) Les pourcentages de jeunes plants contaminés provenant des boutures de racines malades et saines sont de 12% et 6%, mais la différence entre ces deux nombres 12-6 ne peut pas être analysée comme si les pousses contaminées étaient plus virulentes que les saines, car nous avons constaté que : a) même les sections provenant des branches les plus contaminées et les jeunes arbres ressemblant à de petites "pagodes" ne pouvaient que se développer sainement durant la croissance. b) Dans bien des cas une section provenant d'une souche saine ou contaminée donne une première croissance saine, mais la suivante de cette même pousse donne un plant contaminé, puis à nouveau un plant sain. On ne peut expliquer pourquoi sur un même plant il pouvait y avoir une pousse virulente et deux saines. La distribution erratique des jeunes plants contaminés nous a surpris.

2) Parmi les 167 sections greffées et taillées à partir des troncs, branches, collets, racines, seulement 50 sections ont donné de jeunes plants et parmi ces 50 plants survivants, 3 seulement provenant d'un scion sain greffé sur un collet étaient malades (Fig. 4) montrant des symptômes typiques de contamination ; les 43 jeunes plants restant provenant des sections de racines et radicelles, et les 4 provenant des troncs et des branches étaient tous sains.

3) La pratique usuelle de greffage est d'insérer (greffer) des scions sur des souches début avril, sitôt les branches de ces jeunes plants coupées, pour être utilisées comme pousses (Fig. 1), et les graines de ces plants ont été généralement semées au printemps ou en été l'année précédente. Mais cette année le matériel d'expérimentation utilisé se composait uniquement de plants dont les graines avaient été semées l'année précédente. Par chance nous n'avions greffé aucun scion, puisque les semis de ces lots avaient été déjà taillés, nous avions suffisamment de greffons pour mener nos recherches ; mais un lot non greffé avait été oublié et il nous a permis utilement de constater qu'une fois les nouvelles pousses et feuilles des semis sorties, certaines de ces pousses montraient des symptômes typiques de la maladie du mûrier nain.

D'après les résultats ci-dessus, nous avons conclu que : 1) durant la saison morte, les pousses malades pouvaient perdre leur pathogénicité ; 2) les tailler pouvait induire chez les individus contaminés, jusqu'à présent latents, la manifestation des symptômes. 3) Les souches sont les seules sources d'infection lorsque l'on adopte la méthode de greffage conventionnelle.

DEUXIEME EXPERIENCE

Au printemps 1969, afin de vérifier les conclusions que nous avons formulées l'année précédente, nous avons pris 3 lots de plants de mûrier, les graines ayant été semées le printemps précédent ; le 30 avril, nous avons adopté la méthode de greffe conventionnelle afin de greffer 142 scions contaminés sur 142 troncs (plants) une fois les pousses du premier lot coupées. D'après ces recherches effectuées 80 jours avant, 96% de ces scions malades greffés sont devenus sains.

Toutes les pousses de mûriers du 2ème et 3ème lot ont été taillées le 18 avril, sans avoir greffé de scions sur eux ; le 14 mai, alors que de nouvelles pousses apparaissaient sur ces plants, il était curieux de constater que celles-ci étaient contaminées.

Parmi les 77 plants taillés provenant du 2ème lot sans scions, aucune maladie n'était constatée le 14 mai. Le 30 juin, soit soixante dix jours après la greffe, 2 de ces plants étaient contaminés, et deux autres le furent le 19 juillet soit quatre vingt dix jours après avoir été taillés.

Le 14 mai, il y avait 8 jeunes plants contaminés sur 173 du 3ème lot, 4 de ces 8 plants malades avaient été greffés avec des scions sains. Il a été prouvé après, que l'utilisation de scions sains ou non donne invariablement de jeunes plants malades.

Sur les 165 (173-8) troncs sains du 3ème lot, nous avons greffé le 14 mai, 91 scions contaminés et 74 scions sains. Mi juillet, deux mois après plus précisément, 99,8% des 165 (91+74) scions greffés ont donné des greffons sains. Deux scions malades seulement ont donné des pousses malades.

D'après les résultats ci-dessus, on constate que :

Les troncs malades donnent invariablement des plants malades quels que soient les scions greffés sains ou non.

D'après le 2ème lot, on constate que le pourcentage de troncs malades en avril dans cette zone était de 5% après avoir été taillés et les pousses infectées manifestent leurs symptômes non en une fois mais peu à peu de 0% à 5%.

Ceci tient au fait qu'il y a peu d'éléments malades parmi les pousses saines sur le lot 1 et 3. Les éléments malades venaient des scions malades greffés sur des troncs sains (comme sur le lot 3) ou sur les troncs que nous n'avons pas testés, afin de savoir s'ils étaient sains ou non, en les taillant (comme sur le lot 1).

Aussi s'il existe des semis malades parmi les sains, on constate que ce sont les troncs plus que les scions qui sont pathogènes.

Les troncs du 3ème lot, greffés le 14 mai, avec 91 scions malades étaient sains comme le prouvent les feuilles et nouvelles pousses sorties après la taille le 18 avril ; aussi avons nous écarté la possibilité de troncs pathogènes. Mais pourquoi deux de ces 91 pousses greffées sont elles malades après ?

Trois possibilités sont à envisager : 1) comme nous l'avons vu sur le 2ème lot, après avoir été coupé, les pousses infectées manifestent leurs symptômes non en une fois mais progressivement. Le fait que les 2 pousses greffées le 14 mai, étaient toujours saines, n'exclut pas la possibilité que si ces deux pousses taillées n'avaient pas été greffées immédiatement avec des scions, elles auraient pu montrer des symptômes de maladie vers la mi juillet comme sur le 2ème lot. Il se pourrait donc, que ce soit par ces deux pousses contaminées et dont les symptômes se sont révélés tardivement que les deux plants furent infectés. 2) Les scions eux mêmes de ces deux pousses contenaient des pathogènes inoculés nouvellement par des insectes vecteurs. 3) La première hypothèse était plus vraisemblable que les deux autres, puisque les scions malades greffés n'ont pas donné un pourcentage de pousses contaminées supérieur à 5%, le pourcentage le plus élevé de pousses contaminées obtenu dans cette zone quand les graines de ces pousses ont été semées le printemps précédent, et parce que certains jeunes plants provenant de scions sains greffés sur des troncs contaminés auraient montré des symptômes de maladie sitôt le rameau sorti de terre (Fig. 1), avant même qu'il ne soit en contact avec des insectes vecteurs.

Grâce aux diverses expériences (Ye et coll., 1968-1971) nous pouvons conclure que la sève ou le jus exsudé des mûriers nains contaminés et les graines que nous avons récoltées de ces mûriers, ne sont pas infectieuses. Ainsi, le contact et la transmission trans-embryonnaire des pathogènes est impossible. Un mûrier sain, après avoir été replanté dans un sol piqué où l'on a enlevé un mûrier nain contaminé, sera toujours sain si aucun insecte vecteur n'intervient. Durant une greffe, aucune contamination n'est possible. Les seules possibilités de transmission de cette maladie peuvent avoir lieu avec des espèces bien spécifiques d'insectes vecteurs, ou encore avec le nouveau tissu vasculaire qui se forme entre les scions et les troncs, si aucun d'eux n'étaient à l'origine infecté.

La cause de la différence de pourcentage des individus contaminés, sur les pousses que nous avons utilisées en 1968 et 1969 (9,2% et 5%) vient du fait que plus les plants sont exposés aux insectes vecteurs plus le pourcentage des individus contaminés est élevé. Les semis utilisés en 1968 ont poussés dans des champs pendant deux ans et avaient plus de risque d'être en contact avec des insectes vecteurs que ceux utilisés en 1969 qui ne sont restés en champs qu'un an. La sauterelle de chine (non identifiée) à tête marquée rouge et verte, est la seule qui transmette les pathogènes entre les plants de mûriers (Ye et coll., 1968-1971, Gu et coll. 1972-1973).

TROISIEME EXPERIENCE

D'après les expériences ci-dessus, nous savons que la plupart des scions greffés sur des troncs sains ne donnent de jeunes plants sains, que si les scions ont été coupés de l'arbre souche malade lors de la saison froide. Ce qui veut dire que durant la saison de dormance, les scions malades n'étaient pas pathogènes. En serait-il de même si les scions malades avaient été coupés et greffés en juin au moment où l'arbre souche montrait les symptômes habituels de maladie sur ses pousses.

Parce que nous étions en pleine saison (période de croissance) nous avons dû adopter la méthode de greffage en placage d'écorce (Fig. 5). 37 "tubes" malades ont été greffés sur des arbres sains le 19 juin 1986. D'après les recherches faites le 21 août 25 tubes étaient morts ; 12 tubes, ont donné de petites pousses malades, et quelques pousses saines de troncs d'arbres ont été contaminées et ont montré des symptômes.

Les symptômes de cette maladie sont : les bourgeons axillaires sortent précocement. Les entre-nœuds de la partie distale des rameaux et des branches axillaires sont courts, ne dépassant pas 1mm., la taille des feuilles varie, jusqu'à 2mm de diamètre. Au printemps suivant, les nouvelles feuilles qui pousseront sur ces arbres malades auront une taille normale. Sur ces nouvelles feuilles aucun symptôme n'apparaît bien qu'elles poussent sur l'arbre contaminé de l'année précédente. Ce n'est pas avant mai ou juin que les symptômes de l'année en cours réapparaissent sur les branches et ce n'est qu'à ce moment que les branches commencent à être infectées ou pathogènes.

DISCUSSION

Les recherches ont été faites dans la région de Zhenjiang dans la province de Jiangsu en 1968 - 69 et 1986. Fin mars, tant les parties visibles que cachées, c'est à dire : rejets, branches, troncs, collets, et racines de quatre mûriers nains contaminés ont été taillées en sections les plus petites possibles permettant la propagation par greffage. On a constaté que seuls les jeunes plants provenant d'un collet sectionné, greffé avec des scions sains montraient des symptômes typiques de maladie, alors que les autres sections, même les boutures sectionnées de ces rejets qui ont montré des symptômes sérieux de maladie l'année précédente, ont donné des jeunes arbres sains sur des troncs sains. Néanmoins, nous devons préciser que pendant la saison de dormance, la pathogénicité existait, sur les collets des arbres contaminés et que pendant la période de croissance les symptômes et la pathogénicité s'élevaient lentement. Cette hypothèse s'appuie sur le fait que, dans des conditions naturelles, les arbres montrant de sérieux symptômes de maladie l'année précédente, ne montrent pas de symptômes avant mai ou juin de l'année en cours. Ce n'est qu'une fois que les symptômes et la pathogénicité atteignent les rejets que les greffes de ces rejets commencent à être infectés (Fig. 5B). Cette hypothèse confirme les résultats des études histopathologiques faites par Kawakita (1977-1985), sur les mûriers nains contaminés, à l'aide du microscope électronique. Ses résultats montraient que : le nombre de mycoplasmes (MDM) du mûrier nain sur les tissus allait en décroissant pendant la période de défoliation jusqu'à ne pas être détectable après janvier sur les cultivars Ichinose, et février sur Hachyo-Guiva. Sur les tissus des racines, les MDM peuvent être observés en hiver (Kawakita 1977) Lorsque les mûriers nains malades lors d'un test en hiver, ont été conservés à une température de 20°-30 ° C (dans une serre) et à 27 ° C (dans une pièce de culture) avec trois heures de lumière de plus que le jour normal, les pathogènes MDM, pouvaient se propager en hiver sur les mûriers contaminés comme en été (Kawita 1985). Un semis de mûrier, s'il est pathogène, bien que d'apparence saine, peut être très tôt détecté en effectuant une bouture de retour.

Les symptômes s'accroissent dès que les nouvelles pousses sortent de ces tiges coupées. Si nous greffons des scions qu'ils soient sains ou non, sur ces troncs infectés, les jeunes plants qui sortiront seront tous contaminés.

Les producteurs de semis de mûriers greffent conventionnellement les scions directement sur le tronc dès que les jeunes plants sont coupés pour être utilisés comme troncs. Il n'y a pas de laps de

temps entre cette action et la nouvelle pousse. Les semis pathogènes infectés, ne peuvent donc pas être identifiés.

Les scions étant généralement séparés de l'arbre souche, vers le mois de février pendant la saison morte, les troncs, plus que les scions, jouent un rôle plus important pour enrayer la maladie. Ces résultats sont importants lorsque nous préconisons la mise en quarantaine des plantes pour cette maladie.

CHOLESTEROL CONTENT IN THE DEVELOPING AND ADULT TESTES OF ERI SILKWORM, *PHILOSAMIA RICINI* (Hutt.)

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

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

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

The cholesterol content in the testis varies during the different stages. The cholesterol content in the testis is low in the larval period and also in the pupal period up to the thirteenth day of pupation. It is maximum on the fourteenth day of pupation and decreases in the adults. It is suggested that the cholesterol in the testis might be utilized for the development of various spermatogenic stages.

Keywords: Cholesterol, testes, *Philosamia ricini*.

INTRODUCTION

It has been suggested that cholesterol is necessary for the sustained spermatogenic activity and the maturation of spermatozoa in the testicular tissues of male insects (Blum, 1970). Blum and Meckensen (1968, cited Blum, 1970) have demonstrated that the testis and spermatozoa of the honey bee, the testis of an ant, *Atta texana*, ear wig, *Labidura riparia* and a grass hopper, *Romoelea macroptera* contain significant amount of sterols, primary cholesterol. Zaidi and Khan (1974) have reported the variation in the cholesterol content of the testis of red cotton bug, *Dysdercus cingalatus* after the emergence of the adult. In the present study, cholesterol content of the testis has been estimated in the fifth instar larva, pupa and adult *Philosamia ricini*.

MATERIALS AND METHODS

Eri silkworm, *P. ricini* reared in the laboratory were used in the present work. The pieces of testes of fifth instar larva, pupa and adult with known weight were homogenized in absolute alcohol and solvent ether mixture (1:1). After centrifugation, the supernatant was completely evaporated, keeping the tubes in hot water bath. Liberman Buchard's reagent and cholesterol were added to the tubes containing cholesterol extract and were kept in dark for 20-25 minutes. The optical density of light green colour developed to the solution due to cholesterol content was measured in spectrophotometer at 625 μ using red filter. For the estimation of total cholesterol content of the testes the method of Harrow *et al.* (1960) was followed.

RESULTS AND DISCUSSION

The changes in the cholesterol content of the testis of fifth instar larva, pupa and adult *P. ricini* are summarized in Table I. The cholesterol content in the testis of fifth instar larva was slightly more than that observed during pupa period up to eleventh day of pupation. On the fourteenth day of

pupation the cholesterol content increased to its maximum.

The cholesterol content in the testis of adults prior to mating decreased when compared to that of the fourteenth day pupal testis. The testes of adults after mating showed a slight increase in cholesterol content when compared to that of the adult prior to mating.

Stages Ages	Cholesterol content in mg/100 mg wet weight of the testis <i>Contenu en cholestérol exprimé en mg/100 mg du poids frais de testicule</i>
5th instar larvae <i>Larves au 5ème âge</i>	
1st day <i>1er jour</i>	0.39±0.09
5th day <i>5ème jour</i>	0.34±0.07
Pupal period <i>Période nymphale</i>	
2nd day <i>2ème jour</i>	0.15±0.002
5th day <i>5ème jour</i>	0.09±0.007
8th day <i>8ème jour</i>	0.12±0.007
11th day <i>11ème jour</i>	0.10±0.002
14th day <i>14ème jour</i>	1.76±0.10
Adults <i>Adultes</i>	
Before mating <i>Avant accouplement</i>	0.73±0.09
After mating <i>Après accouplement</i>	0.93±0.10

Table I. Cholesterol content in the testis of *P. ricini* during developmental stages.

Tableau I. Contenu en cholestérol dans le testicule de P. ricini pendant les phases du développement.

The cholesterol has been shown to be essential for normal growth, reproduction and larval molting and metamorphosis in insects (Dadd, 1973; Svoboda *et al.*, 1975). Blum and Meckensen (1968, cited Blum, 1970) have shown that the testes and spermatozoa of the honey bee contain significant amount of sterols, primary cholesterol. Zaidi and Khan (1974) have shown that the cholesterol content in the testes of adult red cotton bug, *D. cingulatus* is low during the first two days after emergence and reaches its maximum on third day, due to high rate of its synthesis and storage

in the testes. The results in the present study in *P. ricini* indicate that the cholesterol content is low during larval stage and pupal stage upto eleventh day of pupation and reaches its maximum on fourteenth day of pupation and decreases nearly to 50 percent in the adults after emergence before mating. In adults, after mating, the cholesterol content increases slightly over that of the adult before mating. The testis of *P. ricini* during larval and up to fourth day of pupal period only contain the spermatogonial cells, primary and secondary spermatocytes. From fifth day of pupation and onwards, the secondary spermatocytes begin to transform into spermatids followed by spermiogenesis. The testis in adults before mating contain large number of sperm bundles and a few other spermatogenic components. After mating the testis contain a few spermatids and spermatozoan bundles (Hurkadli *et al.*, 1988). The low level of cholesterol in the testis of fifth instar larva and pupa up to eleventh day of pupation may indicate that the need for cholesterol during these stages is low or that the cholesterol is utilized in the metabolism of other steroids as suggested by Zaidi and Khan (1974).

The high cholesterol content in the testes of fourteenth day pupa may indicate that the need for cholesterol is higher during that period and possibly that the cholesterol might have been mobilized by the testes from haemolymph and other tissues. During this day and subsequent days of pupation the testes of *P. ricini* contain high percent of spermatozoan bundles. It has been shown that the testes and spermatozoa of the honey bee contain high amount of cholesterol (Blum and Meckensen, 1968, cited by Blum, 1970). Schmidt and Williams (1953, cited by Dumser, 1980) suspected that ecdysteroid hormones are involved in the maturation of spermatocyst in the testes of lepidoptera during pupal-adult development. It has also shown that ecdysone is necessary for the development of testes of several saturniid moths (Kambysellis and Williams, 1971a, 1971b), *Rhodnius prolixus* (Dumser and Davey, 1974) and *periplanata americana* (Blaine and Dixon, 1975). The mobilization of cholesterol by the testes from different tissues has been demonstrated by using labelled cholesterol in the cockroach, *P. americana* (Ishii *et al.*, 1963). The maturation of the spermatocyst in *Mamestra configurata* coincides with the rising levels of 206 hydroxy ecdysone in the developing pupa and occurred well after the rise and fall in the level of ecdysone (Bodnaryk, 1986). It is therefore probable that the need for cholesterol during the late pupal stage in *P. ricini* is higher and that the testes might have mobilized cholesterol from other tissues.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank U.G.C. of India for the award of Senior Fellowship to one of them (H.K.H.).

REFERENCES

- BLAINE W.D. and DIXON S.E. (1975), Testicular development in the cockroach, *Periplaneta americana* (L.), Proc. Entomol. Soc. Ont. 106, 60-65.
- BLUM M.S. (1970), Invertebrate testis in "The testis" (Johanson A.D., Gomes W.R. and Vandemark N.L. eds.) Academic press, New York and London, Vol. II, 393-431.
- BODNARYK R.P. (1986), Ecdysteroid hormone levels in the pupa of the bertha army worm *Mamestra configurata* (Wlk.) during spermatogenesis, J. Insect Physiol. 32(11), 931-935.
- DADD R.H. (1973), Insect Nutrition: Current developments and metabolic implications, Ann. Rev. Ent. 18, 381-420.
- DUMSER J.B. and DAVEY K.G. (1974), Endocrinological and other factors influencing testes development in *Rhodnius prolixus* Can. J. Zool., 52, 1011-1022.
- DUMSER J.B. (1980), The regulation of spermatogenesis in insects, Ann. Rev. Entomol., 25, 341-369.
- HARROW B. BOREK B. MAZUER A. STONE G.C.H. and WAGREICH, Laboratory Manual of Biochemistry (W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, 1960).
- HURKADLI H.K., HOOLI M.A. and NADKARNI V.B., (1988), Testicular development and spermatogenesis in the larva, pupa and adult eri silkworm, *Philosamia ricini* - A histological study, Sericologia, 28(2), 173-181.
- ISHII S., KAPLANIS J.N. and ROBINS W.E. (1963), Distribution and fate of 4-C¹⁴ cholesterol in the adult male american cockroach, Ann. Entomol. Soc. Am. 56, 115.

KAMBYSELLIS M.F. and WILLIAMS C.M. (1971a), *In vitro* developemnt of insect tissues I. A macromolecular factor prerequisite for silkworm spermatogenesis, Biol. Bull, 141, 527-540.

KAMBYSELLIS M.F. and WILLIAMS C.M. (1971b) *In vitro* development of insect tissues II. The role of ecdysone in the spermatogenesis of the silkworms, Biol. Bull. 141, 541-552.

SVOBODA J.A., KAPLANIS J.N. ROBBINS M.E. and THOMPSON W.B. (1975), Recent developments in insect steroid metabolism, Ann. Rev. Entomol., 20, 205-220.

ZAIDI Z.S. and KHAN M.A. (1974), Cholesterol concentration in the haemolymph, fat body and gonads of the red cotton bug, *Dysdercus cingulatus*.,

Fabr. (Hemiptera: Pyrrhocoridae) in relation to metamorphosis, age and reproduction. Indian J. Ent., 1, 11-16.

CONTENU EN CHOLESTEROL DES TESTICULES DU VER A SOIE ERI *PHILOSAMIA RICINI* (Hutt.) AU COURS DU DEVELOPPEMENT ET CHEZ L'ADULTE

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

Department of Zoology, Karnatak University, DHARWAD-580 003, INDE

Le contenu en cholestérol des testicules varie au cours des différents âges. Il est peu élevé pendant la période larvaire et pendant la nymphose, jusqu'au 13^e jour. Il est à son maximum au 14^e jour de la nymphose et diminue chez les adultes. Nous suggérons ici que le cholestérol contenu dans les testicules peut être utilisé au cours des diverses phases de la spermatogénèse.

INTRODUCTION

On a émis l'hypothèse que le cholestérol est nécessaire pour soutenir l'activité spermatogénique et la maturation des spermatozoïdes dans les tissus testiculaires des insectes mâles (Blum, 1970). Blum et McKensen (1968, cité Blum, 1970) ont démontré que les testicules et les spermatozoïdes des abeilles, les testicules d'une fourmi *Atta texana* du perce-oreille *Labidurie riparia* et d'une sauterelle, *Romoelea macroptera* contiennent une quantité significative de stéroles précurseurs de cholestérol. Zaidi et Khan (1974) ont décrit la variation du contenu en cholestérol des testicules de la punaise rouge du coton, *Dysdercus cingulatus* après l'émergence de l'adulte. Dans notre étude, le contenu en cholestérol des testicules a été mesuré chez les larves au 5^e âge, les chrysalides et les adultes de *Philosamia ricini*.

MATERIELS ET METHODES

Pour notre étude, nous avons utilisé le ver à soie Eri, *P. ricini* élevé en laboratoire. Les fragments de testicules des larves du 5^e âge, de la chrysalide et de l'adulte ayant un poids connu ont été homogénéisés dans un mélange d'alcool absolu et d'éther (1:1). Après centrifugation, le surnageant a été totalement évaporé en maintenant les tubes dans les bains-marie. Le réactif de Lieberman Buchard et le cholestérol ont été ajoutés aux tubes contenant l'extrait de cholestérol qui ont été maintenus ensuite à l'obscurité pendant 20-25 minutes. La densité optique de la couleur vert clair qui s'est développée en présence de cholestérol a été mesurée avec un spectrophomètre, à 625 μ à l'aide d'un filtre rouge. La méthode de Harrow et coll. a été utilisée pour calculer la teneur en cholestérol total des testicules.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les variations du contenu en cholestérol des testicules des larves du 5^e âge, des chrysalides et des adultes de *P. ricini* sont présentées dans le tableau I. Le contenu en cholestérol des testicules des larves du cinquième âge est légèrement supérieur à celui observé pendant la période nymphale

*Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapur, BANGALORE-560 062, INDE

squ'au 11^e jour de la nymphose. Au 14^e jour de la nymphose, le contenu en cholestérol des testicules adultes avant l'accouplement est plus faible que celui des testicules du 14^e jour de nymphose. Les testicules adultes après accouplement présentent une légère augmentation du contenu en cholestérol par rapport aux adultes avant accouplement.

Le cholestérol est indispensable à la croissance, la reproduction, la mue larvaire et la métamorphose des insectes (Dadd, 1973 ; Svoboda et coll., 1975). Blum et Meckensen (1968, cité par Blum, 1970) ont montré que les testicules et spermatozoïdes de l'abeille contiennent une quantité significative de stéroïdes, cholestérol primaire. Zaidi et Khan (1974) ont montré que le contenu en cholestérol des testicules de la punaise rouge du coton *D. cingulatus* au stade adulte est bas pendant les deux premiers jours après l'émergence et atteint son maximum au 3^e jour, en raison d'un taux de synthèse élevé et de son accumulation dans les testicules. Les résultats de notre étude sur *P. ricini* indiquent que le contenu en cholestérol est faible pendant le stade larvaire et le stade de nymphose jusqu'au 11^e jour de la nymphose, atteint son maximum au 14^e jour de la nymphose et diminue de presque 50 % chez les adultes après l'émergence et avant l'accouplement. Chez les adultes, après accouplement, le contenu en cholestérol augmente légèrement par rapport à celui des adultes avant accouplement. Les testicules de *P. ricini* pendant la période larvaire jusqu'au 4^e jour contiennent seulement les cellules spermatogoniales, les spermatocytes primaires et secondaires. A partir du 5^e jour de la nymphose, les spermatocytes secondaires commencent à se transformer en spermatides puis suivent les étapes de la spermiogénèse. Les testicules des adultes avant l'accouplement contiennent un grand nombre de spermatophores et quelques autres composés spermatogéniques. Après l'accouplement, les testicules contiennent quelques spermatozoïdes et quelques spermatophores (Hurkadli et coll. 1988). Le niveau de cholestérol des testicules des larves du cinquième âge et des chrysalides jusqu'au 11^e jour de la nymphose peut indiquer que le besoin en cholestérol pendant ces phases est faible ou que le cholestérol est utilisé dans le métabolisme d'autres stéroïdes (Zaidi et Khan, 1974). Le contenu élevé en cholestérol dans les testicules du 14^e jour de nymphose peut indiquer que le besoin en cholestérol est plus fort pendant cette période et qu'il a pu être mobilisé par les testicules à partir de l'hémolymph et d'autres tissus. Au cours de ce 14^e jour et des jours suivants de la nymphose, les testicules de *P. ricini* contiennent un fort pourcentage de spermatophores. Blum et Meckensen, 1968 (cité par Blum, 1970) ont montré que les testicules et les spermatozoïdes de l'abeille contiennent un fort taux de cholestérol. Schmidt et Williams (1953, cité par Dumser, 1980) pensent que les hormones ecdystéroïdes peuvent être impliquées dans la maturation du spermatocyte des testicules des lépidoptères pendant le développement chrysalide-adulte. On a aussi montré que l'ecdysone est nécessaire au développement des testicules de plusieurs papillons saturnidæ (Kambyssellis et Williams, 1971a, 1971b), *Rhodnius prolixus* (Dumser et Davey, 1974) et *Periplaneta americana* (Blaine et Dixon, 1975). La mobilisation par les testicules du cholestérol provenant de différents tissus a été démontré en utilisant du cholestérol marqué chez la blatte, *P. americana* (Ishii et coll., 1963). La maturation des spermatocystes de *Mamestra configurata* coïncide avec les niveaux en hausse d'ecdysone (Bodnaryk, 1986). Il est donc probable que le besoin en cholestérol au cours des derniers stades nymphaux de *P. ricini* est plus fort et que les testicules mobilisent le cholestérol provenant d'autres tissus.

SENSITIVENESS OF SOME BREEDS OF SILKWORM *BOMBYX MORI* L. TO KENCHU VIRUS DISEASE ON LARVAL WEIGHT REDUCTION

R.N. BHASKAR, R. GOVINDAN and M.C. DEVAIAH

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

The larval weight reduction after five days of virus inoculation was maximum in the cross PM x NB7 (41.03 %) and minimum in PM x NB4D2 (10.55 %). The weight reduction ranged from 24.60 to 76.14 per cent at 10 days after inoculation, the minimum and maximum being in PM x NB 4 D2 and NB 7, respectively.

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, Kenchu virus, breed susceptibility.

INTRODUCTION

Kenchu disease of silkworm, *Bombyx mori* L. is widely prevalent in Karnataka (Shyamala, 1978). It is known to be caused by a non-occluded spherical virus measuring $27 \pm 2 \mu\text{m}$ in diameter (Hadimani and Shyamala, 1983). The relative sensitivity of some breeds of *Bombyx mori* to Kenchu virus disease was tested in the laboratory taking into consideration the per cent weight reduction in experimentally inoculated populations and the results are presented in this paper.

MATERIAL AND MEHODS

The Kenchu virus was purified from experimentally infected silkworms by employing the method adopted by Inoue and Ayuzawa (1982) as modified by Hadimani (1980). For isolation, experimentally diseased worms were homogenized in sterile pestle and mortar containing Sorensen's phosphate buffer (0.07 M, PH 7.2), the weight of worms and volume of buffer being 1:4. The homogenized material was kept in refrigerator at 5° C for 24 hrs. It was then filtered through sterile muslin cloth twice and later through sterile Whatman N° 1 filter paper. This filtrate was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. The supernatant was again subjected to centrifugation at 15,000 rpm for 15 minutes in cold. The resultant supernatant was collected and this formed the stock suspension. The virus stock suspension and its serial dilutions (10^{-1} to 10^{-5}) in Sorensen's phosphate buffer (0.72 M; PH 7.2) were smeared separately and uniformly on to the surface sterilized mulberry leaves cut to the size of 12 x 10 cm and fed separately to 50 just hatched out silkworms of Pure Myosre (PM), NB7, PM x Kalimpong A (KA), PM x NB7, PM x NB18, PM x NB4 D2, PM x C. Nichi, NB 7 x NB18 and NB7 x KA and the subsequent feeds were of untreated mulberry leaves suitable to the age of the worms. Larval weight was recorded at five and ten days after virus inoculation and percent weight reduction was calculated based on weights attained in untreated buffer control batch of worms. The data were converted to angular transformations and analysed as per factorial design.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study on the effect of Kenchu viral dilutions on larval weight reduction in different breeds and hybrids of silkworms are discussed as follows.

Viral dilutions <i>Dilutions virales</i>	Silkworm breeds <i>Souches de vers à soie</i>									
	PM x KA	PM x NB7	PM x NB18	PM x NB4D2	PM x C. Nishi	PM	NB7 x NB18	NB7 x KA	NB7	Mean / Moyenne
Stock suspension <i>Suspension normale</i>	16.90 (24.22)*	51.16 (45.65)*	16.31 (23.77)*	17.24 (24.49)*	24.13 (28.00)*	46.24 (42.82)*	16.73 (23.98)*	52.75 (46.65)*	52.56 (46.45)*	32.66 (34.00)*
10^{-1}	18.64 (25.55)	54.88 (47.79)	15.87 (23.30)	12.79 (20.82)	26.46 (30.92)	12.17 (19.68)	13.06 (20.66)	38.46 (20.66)	27.48 (31.56)	24.42 (29.53)
10^{-2}	52.54 (46.43)	64.40 (53.71)	11.65 (19.69)	8.29 (16.33)	11.62 (19.91)	16.11 (23.47)	8.54 (16.97)	32.45 (34.70)	6.90 (15.09)	23.61 (29.00)
10^{-3}	6.77 (15.00)	40.46 (19.14)	22.72 (28.42)	17.27 (23.25)	7.10 (15.45)	14.83 (22.19)	11.96 (20.18)	19.29 (25.99)	22.35 (27.26)	18.08 (25.79)
10^{-4}	15.81 (23.21)	31.71 (34.22)	3.84 (11.24)	6.52 (14.19)	15.13 (26.99)	7.45 (15.50)	8.06 (16.43)	38.34 (37.14)	18.05 (25.62)	16.10 (22.72)
10^{-5}	29.94 (32.89)	3.57 (10.74)	3.84 (11.24)	1.24 (6.29)	9.87 (18.24)	8.69 (14.04)	8.06 (16.43)	9.87 (18.24)	16.23 (23.73)	10.14 (16.87)
Mean / <i>Moyenne</i>	23.43 (27.88)	41.03 (38.54)	12.37 (19.01)	10.55 (17.35)	15.72 (22.41)	17.58 (22.48)	11.07 (19.37)	37.86 (34.33)	23.92 (29.27)	

* Figures in parentheses are angular transformed values / *Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs angulaires transformées.*

S.E.m±/ Intervalle de confiance C.D. at 5%/ I.C. à 5%

Silkworm breeds / *Races vers à soie*

3.24

9.13

Kenchu viral dilutions / *Dilutions du virus Kenchu*

3.89

10.97

Silkworm breeds x Kenchu virus dilutions/ *Races vers à soie x Dilutions virus Kenchu*

0.95

2.70

Table I. Per cent larval weight reduction in silkworm as influenced by different dilutions of Kenchu virus after five days of inoculation

Tableau I. Pourcentage de réduction du poids larvaire des vers à soie ayant été soumis à différentes dilutions du virus Kenchu cinq jours après inoculation.

Viral dilutions <i>Dilutions virales</i>	Silkworm breeds <i>Races de vers à soie</i>									Mean / <i>Moyenne</i>
	PM x KA	PM x NB7	PM x NB18	PM x NB4D2	PM x C. Nichi	PM	NB7 x NB18	NB7 x KA	NB7	
Stock suspension <i>Suspension normale</i>	74.34 (59.62)*	86.57 (68.54)*	69.13 (56.24)*	71.33 (57.60)*	80.31 (63.10)*	65.51 (55.84)*	39.51 (38.94)*	51.50 (45.86)*	86.61 (68.53)*	69.42 (55.01)*
10^{-1}	77.16 (61.56)	41.94 (40.30)	68.25 (55.67)	5.93 (13.98)	33.11 (34.99)	65.51 (55.84)	32.46 (34.51)	35.23 (36.39)	83.62 (66.89)	49.24 (44.27)
10^{-2}	74.34 (58.28)	36.19 (36.95)	48.37 (44.04)	1.58 (6.95)	21.97 (27.45)	50.54 (46.20)	23.26 (28.79)	34.36 (35.29)	73.46 (58.95)	40.23 (37.55)
10^{-3}	7.16 (15.44)	20.45 (25.90)	54.46 (47.55)	51.37 (45.74)	33.21 (35.05)	46.92 (43.72)	25.41 (29.92)	36.58 (36.41)	76.93 (61.25)	39.16 (37.89)
10^{-4}	4.29 (11.90)	20.40 (26.82)	12.07 (20.26)	11.71 (19.96)	20.98 (26.72)	41.20 (40.07)	14.39 (21.99)	22.93 (28.18)	19.85 (63.29)	25.31 (28.80)
10^{-5}	3.27 (11.09)	17.20 (24.45)	0.20 (2.56)	5.71 (13.74)	14.01 (21.97)	1.46 (6.80)	7.40 (16.20)	27.69 (31.69)	56.41 (47.16)	14.81 (18.75)
Mean / <i>Moyenne</i>	39.76 (36.06)	37.12 (37.16)	42.08 (37.54)	24.60 (26.33)	33.93 (34.64)	45.19 (41.21)	23.73 (27.57)	34.71 (36.09)	76.14 (60.73)	

*Figures in parentheses are angular transformed values/ *Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs angulaires transformées.*

S.E.± / *Intervalle de confiance* C.D. at 5%/L.C. à 5%

Silkworm breeds/*Races de vers à soie*

5.00

14.08

Kenchu viral dilutions/*Dilutions du virus Kenchu*

13.68

38.51

Silkworm breeds x Kenchu viral dilutions/*Races vers à soie x Dilutions virus Kenchu*

1.44

4.07

Table II. Per cent larval weight reduction in silkworm as influenced by different dilutions of Kenchu virus 10 days after inoculation.

Tableau II. Pourcentage de déduction du poids larvaire des vers à soie ayant été soumis à différents taux de dilution du virus Kenchu, dix jours après inoculation.

Larval weight reduction after five days of virus inoculation

The weight reduction was found to be significant among the experimented silkworm breeds and hybrids. The maximum weight reduction was observed in PM x NB₇ (41.03 %), NB₇ x KA (31.86 %) and PM x KA (23.43 %). It was minimum among NB₇ x NB₁₈ (11.07 %) followed by PM x NB₄ D₂ (10.55 %), PM x NB₁₈ (12.37 %), PM x C. Nichi (15.72 %), PM (17.58 %), PM x KA (23.43 %), NB₇ (23.92 %) and NB₇ x KA (31.86 %).

The stock suspension fed batches recorded the highest weight reduction of 32.66 % followed by the dilutions in increasing order. With 10⁻⁵ dilution, the larval weight reduction was 10.14 per cent. The interaction effect between silkworm breeds and viral dilutions was also significant. The viral dilution 10⁻⁵ fed PM x NB₄ D₂ (1.24 %) and 10⁻² dilution fed worms of PM x NB₇ (64.40 %) recorded minimum and maximum weight reduction, respectively at 5 days after inoculation. These findings are in agreement with the report of Bullock *et al.* (1970) who also observed that the cotton pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* administered with cytoplasmic polyhedrosis virus were 73.5 per cent smaller than untreated ones and the weights of larvae of a given age were dependant upon the concentration of virus administered.

Larval weight reduction on 10th day after inoculation.

The weight reduction of Kenchu virus inoculated worms on 10th day ranged from 24.60 to 76.14 per cent, the minimum and maximum being in PM x NB₄ D₂ and NB₇, respectively. Statistically, significant difference existed among PM (45.19 %) and NB₇ (76.14 %). The hybrids with both PM and NB₇ as the maternal parents viz., PM x NB₇ (37.12 %), PM x NB₁₈ (42.08 %), PM x C. Nichi (33.93 %), NB₇ x NB₁₈ (23.73 %) and NB₇ x KA (34.71 %) were on par with PM x NB₄ D₂.

The worms administered with 10⁻⁵ dilution of virus recorded minimum (14.81 %) and stock suspension fed worms recorded maximum weight reduction (69.42 %), 10 days after virus inoculation and these were similar to the weight reduction encountered with 10⁻⁴ (25.31 %), 10⁻³ (39.16 %), 10⁻² (40.23 %) and 10⁻¹ (49.24 %). This observation is not in conformity with the findings of Bell and Kanavel (1976) who observed the larval weight of *P. gossypiella* of a given age to decrease as the cytoplasmic polyhedral viral dose increased. The deviation may be attributable to the silkworm strains employed as well as the virus itself. At 10⁻⁵ dilution, PM x NB₁₈ recorded minimum value (0.20 %), while virus stock suspension fed PM x NB₇ recorded maximum of 86.57 % weight reduction among the experimented breeds, and it was found to be significant.

It is obvious from the present data that, in general, there was a tendency that, with Kenchu virus infection, the larval weight reduction increased with increase in the concentration of the virus in all the silkworm strains except in a very few cases, wherein the reduction was more with diluted suspension compared to stock. This is perhaps due to the presence of extraneous tissue components in addition to the virus in the stock suspension. At the speed of 15,000 rpm centrifugation, the virus is present in the supernatant which still retains many of the soluble cellular substances. It is more probable that cell and tissue components exert a diluent effect on the virus which is eliminated to some extent during serial dilutions.

The foregoing results and discussion revealed that the susceptibility of silkworm breeds and hybrids to Kenchu virus varied, as measured by larval weight reduction in the experimentally inoculated silkworms. It was interesting to note the tendency of higher weight reduction in the hybrid PM x NB₇ particularly with high concentration of the virus, as both PM and NB₇ too resulted in comparatively more weight reduction. It could be concluded in general that among the silkworm strains and hybrids tested, PM x NB₄ D₂ was less susceptible to Kenchu virus as the weight reduction in it was at its minimum at both five and 10 days after inoculation. This may imply that the susceptibility of silkworm hybrids to Kenchu virus depends largely on the nature of the strains that are blended.

REFERENCES

- BELL M.R., KANAVEL R.F. (1976), Effect of dose of cytoplasmic polyhedrosis virus on infection, mortality, developmental rate and larval and pupal weights of the pink bollworm., J. Invertebr. Pathol., 6, 387-394.
- BULLOCK H.R., MARTINEZ E. STUERMER C.W. (1970), Cytoplasmic polyhedrosis virus and the development and fecundity of the pink bollworm, J. Invertebr. Pathol., 15, 109-112.

HADIMANI A.K., (1980), Studies on the nature of Kenchu disease of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus in Karnataka, M. Sc. (Agri.) Thesis submitted to U.A.S., Bangalore, India, 153.

HADIMANI A.K., SHYAMALA M.B., (1983), On the nature of 'Kenchu' disease of the silkworm *Bombyx mori* L. in Karnataka, National Sem. Silk Res. and Dev., Bangalore, India, 21.

INOUE H., AYUZAWA C., (1972), Fluorescent antibody study of infectious flacherie of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 19, 227-230.

SHYAMALA M.B. (1978) Flacherie in Karnataka. All India Symposium on Sericultural Sciences, U.A.S., Bangalore, India.

SENSIBILITE DE QUELQUES SOUCHES DE VERS A SOIE BOMBYX MORI A LA MALADIE DU VIRUS KENCHU MESUREE PAR LA REDUCTION DU POIDS LARVAIRE

R.N. BHASKAR, R. GOVINDAN et M.C. DEVAIAH Dept. of Sericulture, University of
Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, Inde

La réduction du poids larvaire cinq jours après inoculation du virus est maximum chez les croisements PM x NB7 (41,03 %) et minimum chez PM x NB4D2 (10,55 %). La réduction de poids se situe entre 24,6 et 76,14 %, 10 jours après inoculation, le minimum et le maximum se situant chez PM x NB4D2 et NB7 respectivement.

INTRODUCTION

La maladie de Kenchu du ver à soie *Bombyx mori* L. est largement répandue dans le Karnataka (Shyamala, 1978). On sait qu'elle est due à un virus sphérique non occlus, mesurant $27 \pm 2 \mu\text{m}$ de diamètre (Hadimani et Shyamala, 1983). La sensibilité relative de certaines souches de vers à soie *Bombyx mori* à la maladie du virus Kenchu a été testée en laboratoire en tenant compte du pourcentage de réduction du poids chez les populations inoculées et les résultats sont présentés dans cet article.

MATERIEL ET METHODES

Le virus Kenchu a été purifié à partir de vers à soie infestés expérimentalement en utilisant la méthode adoptée par Inoue et Ayuzawa (1982) et modifiée par Hadimani (1980). Pour l'isolement, les vers malades ont été homogénéisés dans un mortier stérile contenant un tampon phosphate de Sorensen (0,07M, PH 7,2), le rapport poids des vers/volume du tampon étant de 1:4. Le matériel homogénéisé a été conservé au réfrigérateur à 5° C pendant 24 heures. Puis il a été filtré deux fois à travers une mousseline stérile et ensuite à travers un filtre de papier Whatman N° 1. Ce filtrat a été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Les surnageants ont été centrifugés à nouveau à 15 000 t/mn pendant 15 minutes, au froid. Les surnageants restants ont été collectés pour former la suspension concentrée. La suspension concentrée du virus et ses dilutions (de 10^{-1} à 10^{-5}) dans le tampon phosphate de Sorensen ont été étalées séparément et uniformément sur la surface stérilisée des feuilles de mûrier découpées en morceaux de 12 x 10 cm, constituant la nourriture de 50 vers à soie venant de naître, des souches Pure Mysore (PM), NB7, PM x Kalimpong a (KA), PM x NB7, PM x NB18, PM x NB4D2, PM x C. La nourriture des souches Nichi NB7 x NB18 et NB7 x KA est faite de feuilles de mûrier non traitées, adaptées à l'âge des vers. Le poids larvaire a été enregistré 5 et 10 jours après l'inoculation du virus et le pourcentage de réduction du poids a été calculé par rapport aux poids atteints par les vers des lot-témoins non traités. Les données ont été converties en transformées angulaires et analysées par calcul factoriel.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'étude sur l'effet des dilutions du virus Kenchu sur la réduction du poids larvaire chez les différentes souches et hybrides de vers à soie sont discutés comme suit.

Réduction du poids larvaire cinq jours après l'inoculation du virus

La réduction de poids est significative chez les races hybrides de vers à soie étudiées. La réduction maximum est observée chez PM x NB7 (41,03 %), NB7 x KA (31,86 %) et PM x KA (23,43 %). Elle est minimum chez NB7 x NB18 (11,07 %) suivi par PM x NB4D2 (10,55 %), PM x NB18 (12,37 %), PM x C. Nichi (15,72 %), PM (17,58 %), PM x KA (23,43 %), NB7 (23,92 %) et NB7 x KA (31,86 %).

Les lots nourris avec la solution concentrée ont subi la réduction de poids la plus forte, 32,66 % suivis par les dilutions en ordre décroissant. L'effet d'interaction entre les souches de vers à soie et les dilutions virales est également significatif.

La dilution virale 10^{-5} administrée à PM x NB4D2 (1,24 %) et la dilution 10^{-2} administrée à PM x NB7 (64,4 %) ont donné une réduction de poids minimum et maximum respectivement, 5 jours après inoculation. Ces résultats concordent avec le rapport de Bullock et coll., (1970) qui a observé que le ver à capsule rose du coton, *Pectinophora gossypiella* traité avec le virus de la polyedrose cytoplasmique est plus petit de 73,5 % que le ver non traité et que le poids des larves à un âge donné dépend de la concentration de virus administrée.

Réduction du poids larvaire 10 jours après inoculation

La réduction du poids des vers inoculés avec le virus Kenchu au dixième jour est comprise entre 24,6 et 76,14 %, le minimum et le maximum étant chez PM x NB4D2 et NB7 respectivement. Une différence statistiquement significative existe entre PM (45,19 %) et NB7 (76,14 %). Les hybrides ayant comme parents maternels PM et NB7, c'est-à-dire PM x NB7 (37,12 %), PM x NB18 (42,08 %), PM x C. Nichi (33,93 %), NB7 x NB18 (23,73 %) et NB7 et KA (34,71 %) sont à égalité avec PM x NB4D2.

Les vers qui ont reçu une dilution de virus 10^{-5} ont subi une réduction de poids minimale (14,81 %) et les vers nourris avec la suspension concentrée une réduction maximale (69,42 %) 10 jours après l'inoculation du virus. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec la dilution 10^{-4} (25,31 %), 10^{-3} (39,16 %), 10^{-2} (40,23 %) et 10^{-1} (49,24 %). Cette observation ne concorde pas avec les résultats de Bell et Kanavel (1976) qui indiquent que la réduction du poids larvaire de *P. gossypiella* à un âge donné suit l'augmentation de la dose du virus de la polyedrose cytoplasmique. Cette différence peut provenir aussi bien de la souche employée que du virus lui-même. Les animaux PM x NB18 ont donné une valeur minimale de réduction du poids (0,20 %) avec la dilution 10^{-5} alors que les PM x NB7 nourris avec la suspension concentrée ont subi une réduction de poids maximale de 86,57 % qui est significative.

Ces données montrent clairement que la réduction du poids larvaire due au virus de Kenchu a tendance à augmenter avec l'augmentation de la concentration du virus chez toutes les souches de vers à soie hormis quelques exceptions où la réduction est plus importante avec une suspension diluée qu'avec le concentré. Ceci peut être dû à la présence de tissus constitutifs étrangers, ajoutés à la suspension virale concentrée. Après centrifugation à 15 000 tours/minute, le virus est présent dans le surnageant qui contient encore beaucoup des substances cellulaires solubles. Il est très probable que les composants cellulaires ont un effet diluant sur le virus, effet en partie éliminé pendant les dilutions en série.

Les résultats et discussions présentés précédemment montrent que la sensibilité des souches et hybrides de vers à soie aux virus Kenchu établie sur la réduction du poids larvaire des vers à soie inoculés est variable. Il est intéressant de noter la tendance à une plus forte réduction de poids chez les hybrides PM x NB7 et chez PM x NB7 en particulier avec une forte concentration du virus. On peut conclure de manière générale que parmi les souches de vers à soie et les hybrides testés, PM x NB4D2 est moins sensible au virus Kenchu puisque la réduction de poids est minimum 5 et 10 jours après inoculation. Cela peut impliquer que la sensibilité des vers hybrides au virus Kenchu dépend en grande partie de la nature des souches qui sont croisées.

CONTROL MEASURE OF ROUND HEADED STEM BORER *AEOLESTHES HOLOSERICEA* FABR. (CERAMBYCIDAE: COLEOPTERA) IN SERICULTURAL ZONES UNDER TROPICAL ECOSYSTEM

K.C. MANDAL, R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, S.L. DHAR, S.S. SINHA and
K. SENGUPTA

Entomology Section, Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi, 835303, Bihar, India.

Efforts have been made to explore the possibility to study the efficacy of synthetic insecticides viz., Dimethoate, Phosphamidon, Fenitrothion, Aldrex and cypermethrin to control stem borer, *Aeolesthes holosericea* Fabr. under tropical ecosystem. The performance of phosphamidon (0.05%) and cypermethrin (0.05%) was comparatively better and the control so observed was upto the tune of 100%.

Keywords: *Aeolesthes holosericea*, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, Cypermethrin.

Chemical formulae of the insecticides used:

1. Dimethoate - $C_5H_{12}O_3PS_2N$. dimethyl S(N-methyl Carbamoyl-methyl) Phosphorothiolothionate.
2. Phosphamidon - $C_{10}H_{19}O_5N$ Clp. O-(2-chloro-2-diethyl-carbamoyl)-1-methyl-vinyl)-0,0-dimethyl-phosphate.
3. Fenitrothion - $C_9H_{12}P_5NPS$. Dimethyl 3-methyl-4-nitrophenyl phosphorothionate.
4. Aldrex - $C_{12}H_8Cl_6O$. Hexachloro-6-7-epoxy-1, octahydro-exo1, 4-endo-5, 8-dimethanonaphthalene.
5. Cypermethrin - $C_{22}H_{19}NO_3Cl_2$. (RS) -Cyano-3-phenoxy benzyl (LRS) - Cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropane-carboxylate.

INTRODUCTION

Stemborer, *Aeolesthes holosericea* Fabr. is a serious pest infesting a wide range of tasar food plants. It has been reported causing damage to *Terminalia arjuna* (A&W), *Terminalia tomentosa* (A&W) and *Shorea robusta* (Singh et coll., 1987; Rahman and Khan, 1942; Sharma and Bhalla, 1964). Both the grubs and adults are injurious for primary tasar food plants. The grubs are more destructive than adults. Its presence is indicated by the frass of brown pellets of chewed wood mixed with excreta adhering to bark lying on the ground near the stem.

In the present paper, attempts were made to evaluate the performance of some synthetic insecticides against the grubs of beetle.

MATERIALS AND METHODS

The experimental design was completely randomised and split-split plot with 21 blocks of 210 plants of *T. arjuna* and *T. tomentosa* were screened for pest infestation parameters used for assessing borer attack were the presence of grubs or exit holes on the trees. Five insecticides, viz., Rogor

Insecticide	Concentration	Mortality per replication			Mean percentage mortality $\pm$ SE	Mean mortality and SE of replication
<i>Insecticide</i>	<i>Concentration</i>	<i>Mortalité par réplicat</i>			<i>% moyen de mortalité $\pm$ intervalle de confiance</i>	<i>Mortalité moyenne et intervalle de confiance des réplicats</i>
		I	II	III		
Diamethoate	0.09	18	16	20	74.99 $\pm$ 3.93	18.00 $\pm$ 0.94 a
Phosphamidon	0.05	24	24	24	100 $\pm$ 00	24.00 $\pm$ 0.47 a1
Fenitrothion	0.07	18	16	19	73.61 $\pm$ 3.00	17.66 $\pm$ 0.72 a2
Aldrex	0.6	24	22	22	94.44 $\pm$ 2.27	22.66 $\pm$ 0.98 a3
Cypermethrin	0.05	24	24	24	100 $\pm$ 00	24.00 $\pm$ 0.47 a4
Control/ Témoin	water/ eau	nil	-	-	-	-

't' test probability difference/ Test 't'

a - a1 = p< 0.01

a - a2 = NS

a - a3 = p< 0.02

a - a4 = p< 0.01

a1 - a2 = p< 0.001

a1 - a3 = NS

a1 - a4 = NS

a2 - a3 = p< 0.01

a2 - a4 = p< 0.001

a3 - a4 = NS

Table I. Efficacy of different insecticides for the control of stemborer *Aeolesthes holosericea*.

Tableau I. Efficacité des différents insecticides dans le contrôle de *Aeolesthes holosericea*.

(dimethoate 30 EC), Demicon (phosphamidon 80 EC), fenitrothion 50 EC, aldrex 30 EC and cypermethrin 10 EC in different concentration (0.09, 0.05, 0.07, 0.06 and 0.05%) were prepared. The insecticides were soaked in cotton and plugged in the hole made by borer. All the treatments were replicated 3 times at random. In control, the whole procedure was same except wick cotton soaked with water in place of insecticides. The insecticide soaked cotton was introduced in borer hole with the help of wire. The efficacy of different treatments was recorded from follow up observations regarding reopening of the hole after 2 months in addition of taking general observations on phytotoxy, which were continued for one year. The grubs were considered alive and treatments ineffective where the holes reopened and the excretal pellets were found as usual.

RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that all the treatments except control gave above 70% control. Cypermethrin 0.05% and phosphamidon 0.05% gave 100% control, whereas aldrex 0.6% gave above 97% control (Table I). Other insecticides viz., dimethoate 0.09% and fenitrothion 0.07% were mediocre in action. In control, all the holes were observed opened and fresh frass of excreta were present. After six months of treatments in case of fenitrothion and dimethoate oozing of black fluid was observed. It is probably due to the injury to the plant tissues. In cypermethrin no such symptoms were observed. All the treated holes were observed to be healed after one year. Metcalf and Flint (1962) recommended the use of PDCE (para-dichlorobenzene in 1ml of Carbon bisulfide in alcohol) which if not used properly causes plant injury. Pruthi and Batra (1960) while working on allied borer mentioned the possibility of infestation of 0.1% DDT or BHC in the borer hole with the help of syringe in addition to their recommendation of PDCB. In the present observation, it was recorded that cypermethrin 0.05% and aldrex 0.6% can be safely used for the control of this pest as a safe alternative to other insecticides. Cypermethrin 0.05% causes maximum mortality in all the grub stages in minimum period. Metcalf and Flint (1962) also reported application of 5% rotenone extract in acetone using an oil or similar device. Cremlyn (1979) reported the application of synthetic pyrethroids (cypermethrin) against broad spectrum of pests affecting agriculture and forestry. He further reported that cypermethrin does not affect microbial activity in soil, even when applied directly at high rates. Experiments have shown that cypermethrin 0.05% is highly effective against grubs of *Aeolesthes holosericea*, a major pest of primary tasar food plants.

REFERENCES

- CREMLYN R., (1979), Pesticides preparation and mode of action, John Wiley & Sons, 39-50.
 METCALF C.L., FLINT W.P. (1960) Destructive and useful insects MC Graw Hills Book Company, New York, 720-721.
 PRUTHI H.S., BATRA H.N., (1960), Some important fruit pests of North West India. Indian Counc. agric. Res. Bull., 80-14.
 RAHMAN K.A., KHAN A.W. (1942) Bionomics and control of *Aeolesthes holosericea* F. (Cerambycidae: Coleoptera). Proc. Indian Acad. Sci. (B) 15(4), 181-183.
 SINGH R.N., MANDAL K.C., DHAR S.L., SENGUPTA K. (1987), Studies on the biology and extent of damage by stem borer run on, *Aeolesthes holosericea*. Sericologia, 27(3), 541-546.
 SHARMA P.L., BHALLA O.P. (1964) A survey of study of insect pests of economic importance in Himanchal Pradesh. India J. Ent., 26, 318-333.

MESURE DE CONTROLE DE L'INSECTE DES TIGES A TETE RONDE, *AEOLESTHES HOLOSERICEA* FABR. (CERAMBYCIDAE: COLEOPTERA) DANS LES ZONES SERICICOLES SOUS CLIMAT TROPICAL

K.C. MANDAL, R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, S.L. DHAR, S.S. SINHA, K. SENGUPTA

Entomology Section, Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi, 835303, Bihar,
Inde.

Des efforts ont été faits dans la recherche de l'efficacité des insecticides synthétiques c'est à dire Dimethoate, Phosphamidon, Fenitrothion, Aldrex et Cyperméthrine, afin de lutter contre l'insecte destructeur de tige, Aeolesthes holosericea Fabr., sous conditions climatiques tropicales. Les performances du phosphamidon (0,05%) et de la cyperméthrine (0,05%) sont comparativement meilleures et la réussite observée atteint les environs de 100%.

INTRODUCTION

L'insecte de la tige, *Aeolesthes holosericea* Fabr., est un insecte nuisible, infestant de nombreuses plantes nourricières tasar. Il est connu pour causer des dégâts à *Terminalia arjuna* (A et W), *Terminalia tomentosa* (A et W) et *Shorea robusta* (Sing et al., 1987; Rahman et Khan, 1942; Sharma et Bhalla, 1964). Les larves et les adultes sont tous deux nuisibles chez les plantes tasar primaires. Leur présence se remarque par la poudre de bois se mélangeant aux pétioles adhérent à l'écorce qui se trouve par terre, près de la tige.

Dans cette étude, nous essayons d'évaluer l'action de certains insecticides synthétiques contre les larves de scarabées.

MATERIELS ET METHODES

Le schéma de l'expérience a été totalement randomisé et les parcelles partagées en 21 blocs de 210 plantes de *T. arjuna* et *T. tomentosa* ont été étudiées pour les paramètres d'infestation du parasite qui sont la présence de larves ou de trous sur les arbres. Cinq insecticides, à savoir Rogor (dimethoate 30 EC), Demicron (phosphamidon 80 EC), fenitrothion 50 EC, aldrex 30 EC et cyperméthrine 10 EC de différentes concentrations (0,09, 0,05, 0,07, 0,06 et 0,05%) ont été préparés. Des morceaux de coton ont été imbibés d'insecticide et insérés dans les trous faits par les insectes. Tous les traitements ont été répliqués trois fois au hasard. Pour le témoin, la même procédure a été employée, la seule différence étant l'emploi de morceaux de coton trempés dans de l'eau au lieu de l'insecticide. Les cotons trempés d'insecticide ont été introduits dans les trous des insectes à l'aide d'un fil métallique. L'efficacité des différents traitements a été interprétée d'après les observations suivantes : la réouverture des trous au bout de deux mois ainsi que des observations générales sur la phytotoxicité qui a été poursuivie pendant un an. Les larves ont été considérées comme vivantes et le traitement inefficace lorsque les trous se sont réouverts et que l'on a trouvé comme d'habitude les pétioles d'excrétion.

RESULTATS ET DISCUSSION

On a observé que tous les traitements en dehors du témoin entraînent une efficacité de 70%. La cyperméthrine 0,05% et le phosphamidon 0,05% ont une efficacité de 100%, alors que aldrex 0,6% a une efficacité de plus de 87% (Tableau I). Les autres insecticides, à savoir dimethoate 0,09% et fenitrothion 0,07% ont une action médiocre. Chez les témoins, tous les trous sont ouverts et on a trouvé de la poudre fraîche d'excreta. Après six mois de traitement au fenitrothion et diamethoate, on a pu observer le suintement dû à l'infection des tissus de la plante. Avec la cyperméthrine, on n'a pas observé de tels symptômes. Tous les orifices traités ont été guéris au bout d'une année. Metcalf et Flint recommandent l'utilisation de PDCE (para-dichlorobenzène dans 1ml de disulfure de carbone en solution alcoolique) qui peut endommager les plantes, s'il n'est pas utilisé correctement. Lorsqu'ils travaillaient sur des parasites voisins, Pruthi et Batra (1960) ont mentionné la possibilité d'injecter 0,1% DDT ou BHC dans l'orifice de l'insecte à l'aide d'une seringue en plus de l'utilisation de PDCB. Nous avons observé ici que la cyperméthrine 0,05% et aldrex 0,6% peuvent être utilisés en toute sécurité pour le contrôle de ce parasite comme alternative aux autres insecticides. La cyperméthrine à 0,05% provoque une mortalité maximum à tous les stades larvaires en une période minimum. Metcalf et Flint (1962) ont aussi utilisé l'application d'extrait de rotenone à 5% dans l'acétone à l'aide d'une huile ou d'un moyen similaire. Cremlyn (1979) a utilisé l'application de pyréthroides synthétiques (cyperméthrine) contre le large spectre des parasites affectant l'agriculture et les forêts. Il a de plus rapporté que la cyperméthrine n'affecte pas l'activité microbienne dans le terrain, même lorsqu'elle est appliquée à forte dose. Les expériences ont montré que la cyperméthrine 0,05% est hautement efficace contre l'insecte *Aeolesthes holosericea*, le parasite principal des plantes nourricières tasar.

SOME BIOCHEMICAL CHANGES IN "TUKRA" AFFECTED LEAVES OF MULBERRY VARIETIES

M.P. SHREE, V.M. SREEDHARA, N.N. UMESH KUMAR and G. BORAIAH

Department of Sericulture, Bangalore University, Prasanna Kumar Block, Bangalore 560 009, India.

Experiments were conducted to analyse the changes in the total chlorophyll, soluble proteins, soluble sugars, starch and moisture content in tukra affected and healthy leaves of mulberry varieties viz., Kajli and Kanva-2. The results revealed that in Kajli there was a decrease in chlorophyll and protein contents by 4% and 10.5% respectively, where as there was an increase in the total soluble sugars and starch by 35% and 36% respectively in tukra diseased leaves when compared to healthy leaves. In Kanva-2, there was an increase in the total chlorophyll, total soluble proteins, total soluble sugars and starch by 18%, 40%, 25% and 27% respectively in the leaves of tukra affected plants when compared to healthy leaves. The moisture content was almost identical in both diseased and healthy leaves of Kajli while there was an increase in the tukra affected Kanva-2 leaves.

Keywords: Chlorophyll, Kajli, Kanva-2, moisture content, mulberry, proteins, starch, sugars, tukra.

INTRODUCTION

The tukra disease is caused by a virus and is transmitted through a vector *Maconellicoccus hirsutus* which belongs to the class Pseudococcidae (Rangaswamy *et al.*, 1976). A scrutiny of available literature shows that no attempt was made to investigate the biochemical aspects of this host pathogen relation except Thangamani and Vivekanandan's work (1983).

In Karnataka, the incidence of this disease is high and loss in leaf yield poses a problem to sericulturists. So, an attempt was made to study the biochemical aspects of mulberry varieties viz. Kajli and Kanva-2.

MATERIALS AND METHODS

Healthy and tukra affected leaves of mulberry varieties (Kajli and Kanva-2) from Gavimutt (Karnataka) were collected during December 1987, as there was a very high incidence of the disease.

Changes in the total chlorophyll, total soluble proteins, total soluble sugars, starch and moisture content in both healthy and tukra diseased leaves were carried out following standard procedures (Table I).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of biochemical analysis of healthy and tukra diseased leaves of the two varieties of mulberry are given in Table II. It is clear from this table that the total chlorophyll and total soluble proteins decreased considerably in tukra affected Kajli variety where as total soluble sugars and starch content increased. In Kanva-2 variety, there was a considerable increase in the total chlorophyll and

Compounds <i>Composants</i>	Method followed <i>Méthode suivie</i>	Authors <i>Auteurs</i>
Total chlorophyll <i>Chlorophylle totale</i>	Acetone extract method <i>Extraction à l'acétone</i>	Arnon(1949)
Total soluble proteins <i>Protéines solubles totales</i>	Lowry method <i>Méthode de Lowry</i>	Lowry et al. (1951)
Total soluble sugars <i>Sucres solubles totaux</i>	Anthrone method <i>Méthode à l'anthrone</i>	Willis & Yemm (1954)
Starch <i>Amidon</i>	Anthrone method <i>Méthode à l'anthrone</i>	Mahadevan (1986)
Moisture <i>Humidité</i>	Gravimetric method <i>Méthode gravimétrique</i>	

Table I. Methods of analysis of different components.

Tableau I. Méthodes d'analyse des différents composants.

Particulars <i>Composants</i>	Kajli		Kanva-2	
	Healthy leaves <i>Feuilles saines</i>	Tukra affected leaves <i>Feuilles infectées</i>	Healthy leaves <i>Feuilles saines</i>	Tukra affected leaves <i>Feuilles infectées</i>
Total chlorophyll ($\mu\text{g/g}$) <i>Chlorophylle totale ($\mu\text{g/g}$)</i>	33.00	31.85	23.10	28.25
Chlorophyll a ($\mu\text{g/g}$) <i>Chlorophylle a ($\mu\text{g/g}$)</i>	20.30	20.65	14.85	18.30
Chlorophyll b ($\mu\text{g/g}$) <i>Chlorophylle b ($\mu\text{g/g}$)</i>	12.90	11.20	8.25	9.95
Chlorophyll a/b ratio <i>Rapport chlorophylles a/b</i>	1.57	1.84	1.80	1.83
Total soluble proteins (mg/g) <i>Protéines solubles totales (mg/g)</i>	190	170	160	270
Total soluble sugars (mg/g) <i>Sucres solubles totaux (mg/g)</i>	180	280	150	200
Starch (mg/g) <i>Amidon (mg/g)</i>	160	250	130	180
Moisture (%) <i>Humidité (%)</i>	37.60	38.00	70.30	74.50

* Values represent the mean of six independent experiments.

* Les valeurs représentent la moyenne de six expériences indépendantes.

Table II. Biochemical composition of tukra affected mulberry varieties*.

Tableau II. Composition biochimique des variétés de mûrier affectées par le tukra*.

total soluble proteins, the results being in conformity with that of Thangamani and Vivekanandan's work (1983). While, contrary to their results, total soluble sugars showed an increase and so also was the starch content.

In Kajli variety, total chlorophyll decreased when compared to Kanva-2, probably due to difference in the activity of chlorophyllase (Kaur & Deshpande, 1980). Chlorophyll a/b ratio was not markedly altered despite tukra infection in Kanva-2, where as there was a marginal increase in the Kajli variety. The total soluble sugars and starch had increased in both varieties studied. However, this is contrary to the observations made by Thangamani and Vivekanandan (1983). Regarding total soluble proteins, it can be interpreted that proteins are synthesised at a faster rate and more stable (Shaw, 1963) or less utilized by the pathogen in Kanva-2. While in Kajli, proteins are degraded or utilized by the pathogen at a faster rate (Samborski *et al.*, 1958).

However, the moisture content was almost identical in the Kajli variety where as in Kanva-2, there was an increase in the tukra affected leaves compared to healthy ones.

REFERENCES

- ARNON D.I. (1949), Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Pl. Physiol.*, 24(1), 1-15.
 KAUR M., DESHPANDE K.B. (1980), *Ind. Phytopathol.*, 33, 344-345.
 LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951), Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265.
 MAHADEVAN A., SRIDHAR R. (1986), *Methods of physiological plant pathology*, p. 148-150.
 RANGASWAMY G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISHVANATHAN K. (1976), *Sericultural manual, I. Mulberry cultivation*. C.S.B. Publication, Bangalore.
 SAMBORSKI D.J., FORSYTH, PARSON C. (1958), *Can. J. Bot.*, 36, 591-601.
 SHAW M. (1963), *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1, 259-294.
 THANGAMANI R., VIVEKANANDAN M. (1983), Effective utilization of tukra diseased mulberry leaves as silkworm *Bombyx mori* L. feeding. *Sericologia*, 23(4), 213-223.
 WILLIS A.J., YEMM E.M. (1954), The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical J.*, 57, 508-514.

MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES DES FEUILLES DE CERTAINES VARIETES DE MURIER ATTEINTES DE "TUKRA"

M.P. SHREE, V.M. SREEDHARA, N N. UMESH KUMAR and G. BORAIAH,

Department of Sericulture, Bangalore University, Prasanna Kumar Block, Bangalore 56009, Inde.

Des expériences ont été conduites sur des feuilles saines et atteintes de tukra de diverses variétés de mûrier, à savoir Kajli et Kanva-2, afin d'analyser les modifications de la chlorophylle totale, des protéines solubles, des sucres solubles, de l'amidon et du contenu en eau. Dans la variété Kajli, les résultats indiquent une diminution des contenus en chlorophylle, en protéines, respectivement de 4 % et de 10,5 % et une augmentation des sucres solubles totaux et de l'amidon de 35 % et 36 % respectivement dans les feuilles malades, par rapport aux feuilles saines. Le contenu en eau est presque identique dans les feuilles saines et les feuilles malades de Kajli, alors qu'il est accru dans les feuilles de Kanva-2 atteintes de tukra.

INTRODUCTION

La maladie de tukra provient d'un virus et se transmet par le vecteur *Maconellicoccus hirsutus*, appartenant à la classe des Pseudococcidae (Rangswamy *et al.*, 1976). En consultant la littérature existante sur ce sujet, on s'aperçoit qu'aucune recherche n'a été faite sur l'aspect biochimique de la relation pathogène avec cet hôte, en dehors des travaux de Thangamani et Vivekanadan (1983). Au Karnataka, l'incidence de cette maladie est forte et la perte en rendement de feuilles pose un problème aux sériculteurs. Aussi, nous avons tenté d'étudier les aspects biochimiques chez les variétés de mûrier Kajli et Kanva-2.

MATERIELS ET METHODES

Les feuilles de mûrier (Kajli et Kanva-2) saines et atteintes de tukra ont été récoltées à Gavimutt (Karnataka) pendant le mois de décembre 1987, car l'incidence de la maladie est très forte.

Les modifications de la chlorophylle totale des protéines solubles totales, des sucres solubles totaux, de l'amidon et du contenu en eau chez les feuilles saines et atteintes de tukra ont été étudiées selon les procédures habituelles (Tableau I).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse biochimique des feuilles saines et atteintes de tukra des deux variétés de mûrier sont donnés dans le Tableau II. Ce tableau montre clairement que les quantités de chlorophylle totale et de protéines solubles totales diminuent considérablement chez la variété Kajli atteinte de tukra alors que le contenu en sucres solubles totaux et en amidon augmente. Dans la variété Kanva-2, il y a une augmentation considérable de la chlorophylle totale et des protéines solubles totales ; ces résultats concordent avec les travaux de Thangamani et Vivekanandan (1983), alors que, contrairement à ces résultats, les sucres solubles totaux sont en augmentation ainsi que le contenu en amidon.

Dans la variété Kajli, le contenu en chlorophylle totale est plus faible que chez Kanva-2, probablement en raison de la différence d'activité de la chlorophyllase (Kaur et Deshpande, 1980). Le rapport chlorophylle a/b n'est pas nettement modifié par l'infection tukra chez Kanva-2, alors qu'il y a une légère augmentation chez Kajli. Les sucres solubles totaux et l'amidon sont en augmentation

dans les deux variétés étudiées. Pourtant ceci va à l'encontre des observations faites par Thangamani et Vivekanandan (1983). Pour ce qui est des protéines solubles totales, on peut l'expliquer par le fait que les protéines se synthétisent plus rapidement et de manière plus stable (Shaw, 1963), ou sont moins utilisées par le pathogène des Kanva-2. alors que chez Kajli, les protéines se dégradent ou sont utilisées par le pathogène à un rythme plus rapide (Samborski *et al.*, 1958).

Pourtant, le contenu en eau est presque identique dans la variété Kajli, alors que chez Kanva-2, il est en augmentation chez les feuilles atteintes de tukra par rapport aux feuilles saines.

Brief Note

INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION STUDIES IN MULBERRY

N. K. DWIVEDI, N. SURYANARAYANA, B. N. SUSHEELAMMA, A. K. SIKDAR* and M. S. JOLLY**

Mulberry Breeding and Genetics Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008, India.

Crossability of colchicine induced monoecious mutant (diploid) of mulberry variety *Kanva-2* (*Morus alba* L.) was studied with eleven species of mulberry. Mutant has 93.16% pollen fertility. Maximum and minimum seed set per cent was recorded in the crosses *M. latifolia* x *M. alba* var. *Kanva-2* (86.15%) and *M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2* (7.54%) respectively. The highest and lowest seed germination was noticed in *M. alba* var. *Kanva-2* x *M. alba* Var. *Kanva-2* (67%) and *M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2* (11.11%) combinations respectively. The low seed set may be due to the difference in parental chromosome numbers and ploidy levels.

Keywords: *Morus alba*, Interspecific hybrids, Colchicine induced mutant.

INTRODUCTION

Kanva-2, a high yielding cultivated variety of *Morus alba* L. only bears female flowers. Dwivedi *et al.* (1987a) have isolated diploid monoecus mutant from its colchicine treated population. Floral vasculature, trichomes and embryology of this mutant have been reported (Dwivedi *et al.*, 1987b; 1987c). An experiment was taken up at this Institute to study the crossability of this colchicine induced diploid monoecious mutant of the variety *kanva-2*. The present short communication reports on the crossability of the mutant with different eleven species of mulberry.

MATERIALS AND METHODS

The eleven female mulberry species used in the hybridization programme with colchicine induced monoecious diploid mutant variety *Kanva-2* (*Morus alba* L.) were *M. alba* var. *Kanva-2* (2n=28; Dwivedi *et al.* 1987a) *M. australis* Roxb. (2n=28; Osawa, 1920). *M. bombycis* Kodiz. (2n=28; Seki, 1952), *M. cathayana* Hemsl. (2n=56, 84, 112; Janaki Ammal, 1948), *M. ihou* Koidz. (2n=28; Seki, 1952), *M. indica* (2n=28; Datta, 1954), *M. multicaulis* Refin. (2n=28; Osawa, 1920); *M. nigra* L. (2n=308, Seki and Oshikane, 1960) and *M. sinensis* L. (2n=28). Crosses were made in the months of June and December, 1986 after biannual pruning. The female catkins of these eleven species were covered with pergamin bags after 3 days of emergence of inflorescences. Pollen grains collected from male inflorescences of monoecious mutant were dusted over the receptive stigmas of the pistil with the help of camel hair brush. In each cross 20 female inflorescences were pollinated. Pollen fertility was studied by using 1% acetocarmine. Fruits were harvested after complete ripening. Weight of sorosis was recorded. Achenes were harvested individually and seeds were harvested to know the per cent seed set. 100 seed weight was calculated and seed germination was recorded after 20 days of seed sowing.

* Deputy Director, N.S.S.P., Madanapalle ** Former Director, C.S.R. & T.I., Mysore 570 008

Name of the cross <i>Nom du croisement</i>	Weight of sorosis (g.) <i>Poids de sorose (g)</i>	No. of achenes/ sorosis <i>Nbr. d'akène /sorose</i>	No. of seeds/ sorosis <i>Nbr. graines/ sorose</i>	Weight of 100 seeds (mg) <i>Poids de 100 graines (mg)</i>	Seed set (%) <i>Graines (%)</i>	Seed germination (%) <i>Germination des graines (%)</i>
<i>alba</i> var <i>Kanva-2</i> x <i>M. alba</i>	1.19±0.11	26.50±2.12	20.20±5.35	158	76.23	67.00
<i>M. australis</i> x <i>M. alba</i>	0.33±0.13	16.30±6.31	9.00±2.31	105	55.22	58.00
<i>M. bombycis</i> x <i>M. alba</i>	1.36±0.35	26.90±4.33	13.60±3.86	111	50.55	40.00
<i>M. cathyana</i> x <i>M. alba</i>	1.05±0.71	18.90±6.37	7.90±5.24	167	31.79	41.00
<i>M. ihou</i> x <i>M. alba</i>	1.29±0.79	22.72±11.62	9.00±6.45	180	39.61	32.00
<i>M. indica</i> x <i>M. alba</i>	1.05±0.16	17.10±10.25	12.60±7.44	163	73.68	57.00
<i>M. latifolia</i> x <i>M. alba</i>	1.37±0.26	26.00±1.83	22.40±1.89	162	86.15	62.00
<i>M. laevigata</i> x <i>M. alba</i>	2.76±1.03	79.60±17.75	6.70±15.12	72	7.54	11.11
<i>M. multicaulis</i> x <i>M. alba</i>	1.25±0.54	26.30±6.27	11.90±6.38	278	45.25	33.0
<i>M. nigra</i> x <i>M. alba</i>	0.91±0.05	20.50±1.90	5.50±1.18	97	26.83	31.00
<i>M. sinensis</i> x <i>M. alba</i>	1.29±0.17	31.00±4.81	20.00±1.63	218	64.52	52.00

± : indicates standard error ; ± : *écart type*

M. alba = *M. alba* var. *Kanva-2*, Mutant

Table 1 : Fruit characters, seed set and seed germination in different crosses of mulberry (average 20 catkins)

Tableau 1 : Caractères des fruits, des graines et de la germination des graines chez différents croisements de mûriers (moyenne 20 chatons)

RESULTS AND DISCUSSION

Fruits and seed set characters and seed germination in different crosses are given in Table 1. The pollen fertility of monoecious diploid mutant determined was 93.16%. No significant difference was observed in the number of the days (20-25 days) taken for fruit ripening in different crosses made. Sorosis weight ranged between 0.91 g (*M. nigra* x *M. alba* var. *Kanva-2*) to 2.76 g (*M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2*) among the diverse crosses. The average number of achenes per sorosis varied between 10.50 (*M. nigra* x *M. alba* var. *Kanva-2*) to 79.60 (*M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2*). However, the number of seeds per sorosis in different crosses ranged from 6 (*M. nigra* x *M. alba* var. *Kanva-2*) to 22 (*M. laetifolia* x *M. alba* var. *Kanva-2*). Maximum and minimum seed set per cent were recorded in crosses *M. latifolia* x *M. alba* var. *Kanva-2* (86.5%) and *M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2* (7.54%) respectively. The weight of 100 seeds indicated range between 72 mg to 278 mg in *M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2* and *M. multicaulis* x *M. alba* var. *Kanva-2* combinations respectively. The highest and lowest seed germination was observed in *M. alba* var. *Kanva-2* x *M. alba* var. *Kanva-2* (67%) and *M. laevigata* x *M. alba* var. *Kanva-2* (11.11%) combinations respectively.

The poor seed setting in some cross combinations involving *M. cathayana*, *M. laevigata* and *M. nigra* with diploid mutant of *M. alba* var. *Kanva-2* can be attributed to difference in chromosome numbers and ploidy levels (Katagiri *et al.*, and Dzhafov and Nadzhafov, 1984).

Having desirable economic characters (Dwivedi, *et al.* 1987a), the colchicine induced diploid monoecious mutant ($2n=28$) of *Morus alba* var. *Kanva-2* is being used in different breeding programmes at this Institute to improve yield and quality of mulberry leaf.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors are thankful to Dr. K. Sengupta, Director, C.S.R. & T.I., Mysore, for providing facilities.

REFERENCES

- DATTA M., Cytogenetical studies in two species of *Morus*, *Cytologia*, 19 : 86-95.
- DWIVEDI N. K., SIKDAR A.K., JOLLY M. S., SUSHEELAMMA B. N., SURYANARAYANA N., (1987a), Colchicine induced monoecious mutant in mulberry, *Curr. Sci.*, (in press)
- DWIVEDI N. K., SIKDAR A. K., JOLLY M. S., (1987a), Floral vasculature and trichome studies in female and colchicine induced male and abnormal flowers of mulberry variety *Kanva-2* (*Morus alba* L.), *Indian J. Seric.*, 26 (1), p. 46-53.
- DWIVEDI N. K., SIKDAR A. K., JOLLY M. S., SURYANARAYANA N., SUSHEELAMMA B. N., (1987c) Contribution to the embryology of mulberry (*Morus alba* var. *Kanva-2*), *Proc. Indian Acad. Sci. (P.)*, 97 (5), p. 405-409.
- DZHAFOV N. A., NADZHAFOV F. N., (1984), Production and study of interspecific mulberry hybrids of different ploidy, *Plant Breeding Abst.*, 54 : p. 160.
- JANAKI AMMAL E. K., (1948), The origin of black mulberry, *J. Roy. Hort. Soc.*, 73, p. 117-120.
- KATAGIRI K., NAKAJIMA K., YOKOYAMA T., (1982), The triploidy in mulberry varieties from Thailand, *J. Seric. Sci. Japan*, p. 539-540.
- OSAWA I., (1920), Cytological and experimental studies in *Morus* with species reference to triploid mutants, *Bull. Imp. Seric. Expt. Stn.*, 1, p. 318-369.
- SEKI H., (1952), On the triploid mulberry tree I. On the Mount Taro in Shinshu, *J. Seric. Sci. Japan*, 20, p. 26.
- SEKI H., OSHIKANE K., (1960), Studies in polyploid mulberry tree IV. Cytological and morphological studies in *Morus nigra* L., *Res. Rep. Fac. Text and Seric. Shinshu Univ. Japan*, 10, p. 7-13.

ETUDE SUR L'HYBRIDATION INTERSPECIFIQUE CHEZ LE MURIER

N. K. DWIVEDI, N. SRYANARAYANA, B. N. SUSHEELAMMA, A. K. SIKDAR and M. S. JOLLY**

Mulberry Breeding and Genetics Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008, Inde.

Nous étudions ici la possibilité de croisement du mutant monoïque induit par colchicine (diploïde) de la variété de mûrier *Kanva-2* (*Morus alba* L.) avec onze espèces de mûrier. Le mutant présente une fertilité de pollen de 93,16%. Des lots à pourcentage maximum et minimum ont été enregistrés dans les croisements *M. latifolia* x *M. alba* variété *Kanva-2* (86,15%) et *M. laevigata* x *M. alba* variété *Kanva-2* (7,54%) respectivement. Le plus fort et le plus bas taux de germination ont été observés dans les croisements *M. alba* variété *Kanva-2* x *M. alba* variété *Kanva-2* (67%) et chez *M. laevigata* x *M. alba* variété *Kanva-2* (11,11%). La production de graines la plus basse peut provenir de la différence entre le nombre des chromosomes chez les parents et les niveaux de ploïdie.

INTRODUCTION

Kanva -2, une variété de *Morus alba* L. à haut rendement ne porte que des fleurs femelles. Dwivedi *et al* (1987a) ont isolé un mutant diploïde monoïque de cette population traitée à la colchicine. La vasculature florale, les trichomes, l'embryologie de ce mutant ont fait l'objet d'articles antérieurs (Dwivedi *et al.*, 1987b, 1987c). Une expérience a été menée dans notre institut pour étudier la possibilité de croisement de ce mutant monoïque diploïde de la variété *Kanva-2* induit par colchicine. Cette brève communication traite de la possibilité de croisement du mutant avec onze espèces différentes de mûrier.

MATERIEL ET METHODES

Les onze espèces de mûrier femelle utilisées dans le programme d'hybridation avec le mutant diploïde monoïque de la variété *Kanva-2* (*Morus alba* L.) sont *M. alba* var. *Kanva-2* (2n = 28; Dwivedi *et al* 1987a), *M. australis* Roxb. (2n = 28; Osawa, 1920), *M. bombycis* Kodiz (2n = 28; Seki, 1952), *M. cathayana* Hemsl (2n = 56,84, 112; Janaki, Ammal, 1948, M. Ihou Koidz (2n = 28, Seki, 1952), *M. indica* (2n = 28; Datta, 1954), *M. Multicaulis* Refin. (2n = 28; Osawa, 1920); *M. nigra* L. (2n = 308, Seki et Oshikane, 1960) et *M. sinensis* L. (2n = 28). Les croisements ont été faits pendant les mois de juin et décembre 1986, après la taille bi-annuelle. Les chatons femelles de ces onze espèces ont été recouverts de sacs de pergamine 3 jours après l'inflorescence. On a saupoudré les stigmates réceptifs de pollen du pistil avec le pollen récolté sur les inflorescences mâles des mutants monoïques, à l'aide d'une brosse en poils de chameau. Pour chaque croisement, 20 fleurs femelles ont été pollinisées. La fertilité du pollen a été étudiée à l'aide de l'acétocarmin à 1%. Les fruits ont été récoltés après mûrissement total. Le poids de sorose a été enregistré. On a récolté les akènes individuellement ainsi que les graines pour connaître le pourcentage de graines. On a calculé le poids de 100 graines et la germination des graines a été enregistrée 20 jours après que les graines ont été semées.

* Directeur Adjoint, N.S.S.P., Madanapalle ** Ancien Directeur C.S.R. & T.I., Mysore 570 008

RESULTATS ET DISCUSSION

Les caractères des fruits et des graines et la germination de ces graines dans les différents croisements sont donnés dans le Tableau I. La fertilité du pollen des mutants diploïdes monoïques est de 93,16 %. Aucune différence significative n'a été observée en ce qui concerne le nombre de jours (20-25 jours) nécessaires au mûrissement du fruit dans les différents croisements. Le poids de sorose se situe entre 0,91 g (*M. nigra* x *M. alba* variété Kanva -2) et 2,76 g (*M. laevigata* x *M. alba* variété Kanva -2). Le nombre moyen d'achènes par sorose varie de 10,50 (*M. nigra* x *M. alba* var. Kanva-2) à 79,60 (*M. laevigata* x *M. alba* var. Kanva-2). Pourtant, le nombre de graines par sorose dans les différents croisements se situe entre 6 (*M. nigra* x *M. alba* variété Kanva -2) et 22 (*M. laetifolia* x *M. alba* variété Kanva -2). Le pourcentage maximum et minimum de graines est enregistré dans les croisements *M. latifolia* x *M. alba* variété Kanva -2 (86,5%) et *M. laevigata* x *M. alba* variété Kanva-2 (7,54%) respectivement. Le poids de 100 graines indique une variation entre 72 mg et 278 mg dans les combinaisons *M. laevigata* x *M. alba* variété Kanva -2 et *M. multicaulis* x *M. alba* variété Kanva -2, respectivement.

Les faibles résultats obtenus pour l'obtention des graines dans certaines combinaisons concernant *M. cathayana*, *M. laevigata* et *M. nigra* avec le mutant diploïde de *M. alba* variété Kanva -2 peuvent provenir de la différence du nombre de chromosomes et des niveaux de ploïdie (Katagiri *et al.* et Dzhafor et Nadzhafor, 1984).

Le mutant diploïde monoïque induit par colchicine ($2n = 28$) de *Morus alba* variété Kanva-2 ayant des caractères économiques satisfaisants est utilisé dans différents programmes de culture dans cet institut, pour améliorer le rendement et la qualité des feuilles de mûrier.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Remerciements.

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

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

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

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

SETOYAMA K. (1962) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

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

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

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

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 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 would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 50 free reprints are sent by the Editor.

Directeur Gérant : Dr H. BOUVIER

Dépôt Légal : 1er Trimestre 1989