

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)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde/India)
KAWAKAMI K. (Japon/Japan)
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)
PERSOONS C.J. (Netherlands)
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)

SOMMAIRE - CONTENTS

Articles originaux / Original papers

- Leaf surface wax of some indigenous and exotic mulberry cultivars 1**
 Etude sur la cire foliaire chez certains cultivars de mûriers locaux et exotiques . 7
 M. GOWDA, M. SANTA KUMARI

- Rhizogenèse induite chez *Morus alba* L. 11**
 Induced rhizogenesis in *Morus alba* L. 33
 L. CAPPELLOZZA, P. GIULINI, R. MORELLATO

- Epidemiology of *Cercospora* leaf spot disease of mulberry. IV. Process of penetration 41**
 Epidémiologie de la maladie de la tache *Cercospora* chez le mûrier. IV. Processus de pénétration 47
 J. SUKUMAR, A. RAMALINGAM

- Expression of Ser1 and Ser2 genes in the middle silk gland of *Bombyx mori* during the fifth instar 49**
 Expression des gènes Ser1 et Ser2 dans le réservoir de la glande séricigène de *Bombyx mori* au cours du cinquième stade larvaire 61
 J-J. MICHAILLE, A. GAREL, J-C. PRUDHOMME

- Studies on the variability and interrelationship between some quantitative characters in different breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. 67**
 Etudes sur la variabilité et la corrélation entre certains caractères quantitatifs chez diverses souches du ver à soie *Bombyx mori* L. 75
 G.S. RAJANNA, G. SREERAMA REDDY

Notes brèves / Brief notes

- Metabolic profile of the silkworm, *Bombyx mori*, tissues infested with uzi fly, *Tricholyga bombycis* 79**
 Profil métabolique des tissus de *Bombyx mori* infestés par la mouche uzi, *Tricholyga bombycis* 83
 G. JADHAV, V.L. KALLAPUR, S.N. HOLIHOSUR, S.H. BHOSALE

- Some observations on melting in bivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. 87**
 Quelques observations sur la mortalité des chrysalides chez des souches bivoltines du ver à soie *Bombyx mori* L. 91
 P. RAMA MOHANA RAO, M.K.R. NOAMANI, H.K. BASAVARAJ

- Revue signalétique / Bibliography 93**

LEAF SURFACE WAX OF SOME INDIGENOUS AND EXOTIC MULBERRY CULTIVARS

M. GOWDA* & M. SANTA KUMARI

Department of Sericulture, Bangalore University, P.K. Block, Bangalore - 560 009, India.

Quantitative analysis of leaf surface wax of ten mulberry cultivars was carried out. Marked variations occurred in the degree of wax deposition between leaves of different cultivars and between leaves of different age levels. Wax commenced at the leaves of first order and reached maximum level at leaves of 20th order. The cultivars S-54, M5, Goshorami, Okinova-2 and Tsukasaguwa had higher amount of total leaf surface wax as compared to Kajli and Philippines which had lesser amount of total leaf surface wax. The exotic mulberry cultivar had higher amount of total leaf surface wax as compared to indigenous cultivars.

Keywords : Mulberry, leaf wax.

INTRODUCTION

Mulberry is the principal food plant of the silkworm (*Bombyx mori*). The nutritive value of mulberry leaf has considerable influence on the growth of the silkworm. Water content of the mulberry leaves may serve as one of the criteria in estimating the leaf quality (Parpiev, 1968). Positive correlations were found between moisture retention capability and leaf cuticle thickness (Susheelamma and Jolly, 1986). The wax components of the cuticle are responsible for water proofing the surface and the wax embedded in the cuticle is important in water resistance (Martin and Scott, 1957 ; Hall and Jone, 1961 ; Denna, 1970) and has been considered to play an important role in the water economy of leaves.

Plant cuticles and cuticle waxes influence foliar absorption, fungal invasion, water loss and adaptation to water stress. The quality and quantity of leaf surface wax play an important role in resistance and susceptibility of plants to diseases and stress (Kumar, 1974). The knowledge of wax is important in the interpretation of plant response to environment and in agriculture to evaluate drought and disease-resistant varieties.

Little attention has been paid so far to understand the mechanism of water retention of leaves in mulberry and to evolve drought resistant strains to increase leaf yield per hectare under rainfed conditions. The knowledge of wax has not been documented in detail. Hence a quantitative analysis of leaf surface wax of 10 mulberry cultivars was carried out to assess the role of wax in varietal resistance to diseases and drought.

* Lecturer, Department of Botany, V.V. Pura College of Science, K.R. Road, Bangalore - 560 004, India.

MATERIALS AND METHODS

For the present study following five indigenous and five exotic mulberry cultivars grown at mulberry Germplasm Bank - Jnanabharathi Campus, Bangalore - were selected.

Indigenous

(1) Berhampore, (2) Kajli, (3) M5, (4) S-41, (5) S-54.

Exotic

(1) Goshocrami, (2) Kosen, (3) Okinova-2, (4) Philippines, (5) Tsukasaguwa.

Healthy leaves of each cultivar, free from visible injuries, at different age levels namely, leaves of 1st, 5th, 10th, 15th, 20th and 25th order were collected. The leaves were washed thoroughly with tap water and then with distilled water. Fresh leaves were measured for their total surface area (upper and lower) by graph sheet method. Leaves were incubated at 30°C for 24 hours. The stomata were closed during incubation and the leaves wilted and this facilitated keeping to the minimum the extraction of other substances besides wax from the inner parts of the leaves.

Chloroform has been widely used as a solvent for extraction of wax (Dewey *et al.*, 1962 ; Fernandes, 1965 ; Holloway, 1969) and it has been shown to remove wax effectively from the surfaces of leaves (Fernandes *et al.*, 1964).

Incubated leaves of each cultivar were dipped individually with gentle agitation for 20-30 sec. in four successive beakers each containing 20 ml of chloroform at room temperature. Solutions were combined and reduced to dryness in a pre-weighed flask at 70°C, further overnight drying was carried out in an oven at 50°C to remove chloroform smell and the flasks were weighed for total wax. Experiments were repeated three times.

RESULTS

The amount of leaf surface wax extracted from five indigenous and five exotic mulberry cultivars has been shown in figures 1 and 2 respectively. It is evident from these figures that the amount of wax was correlated to the age of leaves and to the cultivar of mulberry. The minimum amount of leaf surface wax (5.9 µg/cm²) was found in leaves of the 1st order and the maximum (12.6 µg/cm²) in leaves of the 20th order. There was gradual decrease in the amount of leaf wax after the 20th order.

Fig. 1 shows the amount of leaf surface wax extracted from indigenous mulberry cultivars. It reveals that minimum amount of wax is found in Kajli and maximum in S-54, M5, S-41 and Berhampore were in-between.

The amount of wax extracted from the leaves of exotic mulberry varieties has been illustrated in Fig. 2. It reveals that Philippines has the minimum amount of wax whereas Goshocrami has the maximum amount of wax. Okinova-2, Tsukasaguwa and Kosen were intermediary.

It is also evident from the figures 1 and 2 that the amount of leaf surface wax extracted from the exotic mulberry varieties was higher compared to indigenous mulberry varieties and the pattern of accumulation of wax was almost similar.

DISCUSSION

Wax production commenced close to the time of leaf emergence (Freeman and Turner, 1985 ; Schieferstein and Loomis, 1956). Maturity of leaves profoundly influenced the deposition of wax and the amount of wax decreased regularly with the advance in age of the leaves. It is evident from the figures 1 & 2 that wax deposition commenced at the leaves of the first order and reached maximum at leaves of the 20th order and it decreased gradually after 20th leaves. Marked variations occurred in the degree of wax formation between leaves of different cultivars and between leaves of different ages (Figs. 1 & 2). The amount of wax deposited appears to be determined genetically.

Wax deposition has been considered to play an important role in the water economy of plants. But Schieferstein and Loomis (1956) could find no direct correlation between the amount of surface

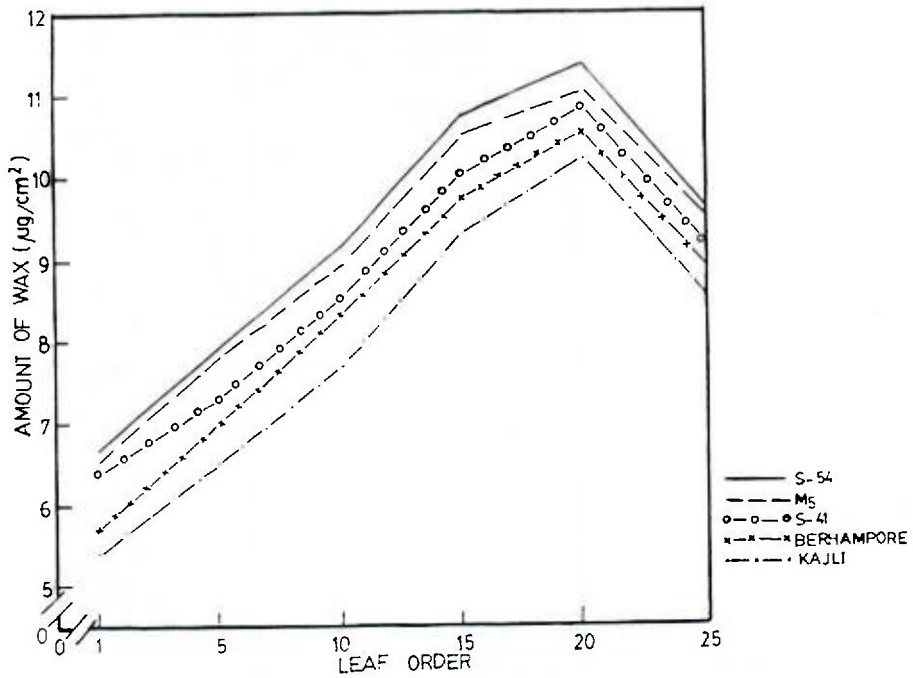


Fig. 1 : Total leaf surface wax ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) for five indigenous mulberry cultivars.

Fig. 1 : Quantité totale de cire sur la surface foliaire ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) chez cinq cultivars de mûriers locaux.

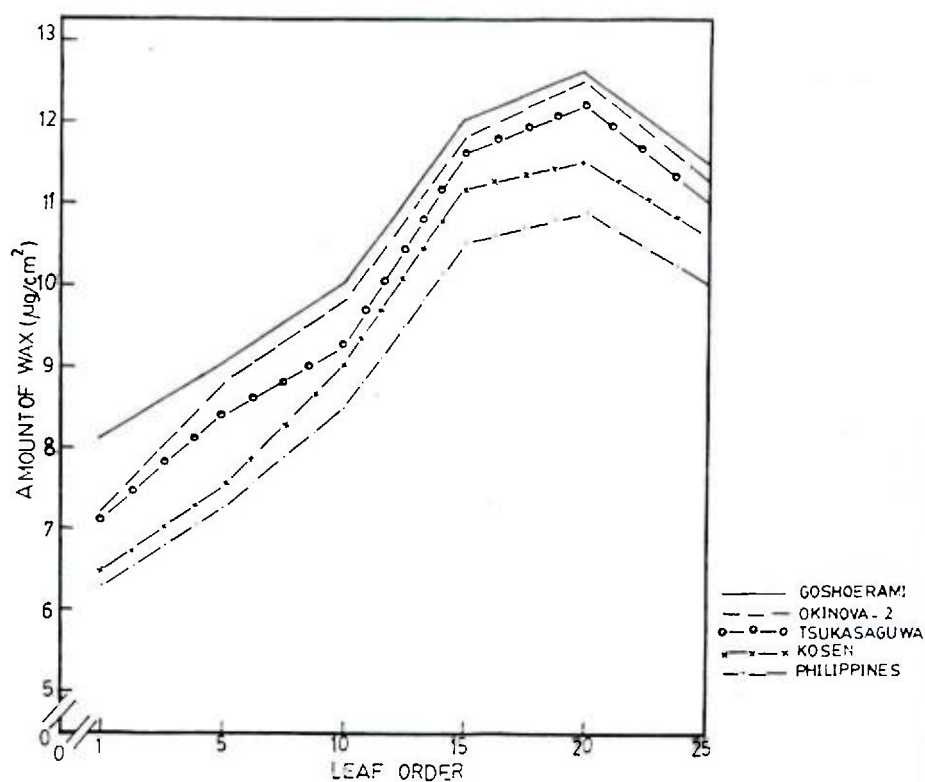


Fig. 2 : Total leaf surface wax ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) for five exotic cultivars.

Fig. 2 : Quantité totale de cire sur la surface foliaire ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) chez cinq cultivars de mûriers exotiques.

wax present and xeromorphic adaptation. However, they concluded that continuous cuticular layer, rather than surface wax deposit, is the major factor in water conservation. Positive correlations were found between moisture retention capability and leaf cuticle thickness (Susheelamma and Jolly, 1986). Mueller, Carr and Loomis (1954) followed the development of surface wax on the leaves of *Musa* species and concluded that wax was extruded as a soft paste through the intact cuticle. Kurtz (1950) in an examination found that the formation of true wax was proportional to the thickness of the cuticle. It is evident from our observation (Figs. 1 & 2) that S-54, M₅, Goshocrami, Okinova-2 and Tsukasaguiwa had higher amounts of total leaf surface wax, Kajli and Philippines had lesser amounts of total leaf surface wax. Mulberry cultivars having higher surface wax can be successfully cultivated under rainfed conditions and this desired character will be used in breeding programme to evolve suitable drought resistant varieties. The exotic mulberry varieties had higher amounts of total leaf surface wax as compared to indigenous varieties. So these cultivars can be exploited in breeding programme with indigenous high yielding varieties.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Head Department of Sericulture for facilities and the U.G.C., New Delhi and Bangalore University, Bangalore, for the award of F.I.P. Fellowship to the senior author.

REFERENCES

- DENNA D.W. (1970), *Aust. J. Biol. Sci.*, 23, 27-31.
- DEWEY O.R., HARTLEY G.S., MACLAUCHLAN J.W.G. (1962), Waxes and their modification by root treatment of plants with trichloroacetate. *Proc. of the Royal Soci., London, Series B* 155, 532-550.
- FERNANDES A.M.S., BAKER E.A., MARTIN J.T. (1964), Studies on plant cuticle. VI. The isolation and fractionation of cuticular waxes. *Ann. of Appl. Biol.*, 53, 43-58.
- FERNANDES A.M.S. (1965), Studies on plant cuticle. VIII. Surface waxes in relation to water repellency. *Ann. of Appl. Biol.*, 56, 297-304.
- FREEMAN B., TURNER D.W. (1985), The epicuticular waxes on the organs of different varieties of banana (*Musa* spp.). Differ in form, chemistry and concentration. *Aust. J. Bot.*, 33, 393-408.
- HALL D.M., JONES R.L. (1961), Physiological significance of surface wax on leaves. *Nature, Lond.*, 191, 95-96.
- HOLLOWAY P.J. (1969), Effects of superficial wax on leaf wettability. *Ann. of Appl. Biol.*, 63, 145-153.
- KUMAR S. (1974), Quantitative and qualitative variations in leaf surface wax in three varieties of wheat varying in susceptibility to blight caused by *Alternaria tritici*. *Ind. Phytopath.*, 27(4), 508-513.
- KURTZ E.B. (1950), The relation of the characteristics and yield of wax of plant age. *Plant Physiol.*, 25, 269-278.
- MARTIN R.J.L., SCOTT G.L. (1957), *Aust. J. Agric. Res.*, 8, 444-459.
- MUELLER L.E., CARR P.H., LOOMIS W.E. (1954), The sub-microscopic structure of plant surfaces. *Ame. J. of Bot.*, 41, 593-600.
- PARPIEV B.A. (1968), Water metabolism in silkworm feed, a strain changing diet. *Shelk.*, 4(39), 15-17.
- SCHIEFERSTEIN R.H., LOOMIS W.E. (1956), Wax deposits on leaf surfaces. *Plant Physiol.*, 31, 240-247.
- SUSHEELAMMA B.N., JOLLY M.S. (1986), Evaluation of morpho physiological parameters associated with drought resistance in mulberry. *Ind. J. Seri.*, 15(1), 6-14.

ETUDE SUR LA CIRE FOLIAIRE CHEZ CERTAINS CULTIVARS DE MURIERS LOCAUX ET EXOTIQUES

M. GOWDA* & M. SANTA KUMARI

Department of Sericulture, Bangalore University, P.K. Block, Bangalore - 560 009, Inde.

Une analyse quantitative de la cire sur la surface foliaire a été effectuée chez dix cultivars de mûriers. Des différences marquées du degré de dépôt de cire apparaissent entre feuilles de différents cultivars et entre feuilles de différents âges. La cire apparaît chez les feuilles du premier ordre et atteint son niveau maximum chez les feuilles du vingtième ordre. Chez les cultivars S-54, M5, Goshierami, Okinova-2 et Tsukasaguwa, la quantité totale de cire sur la surface foliaire est plus élevée par rapport à Kajli et Philippines dont la quantité totale de cire est relativement faible. Les cultivars de mûrier exotiques ont des quantités totales de cire plus élevées que les cultivars indigènes.

INTRODUCTION

Le mûrier est la principale plante nourricière du ver à soie *Bombyx mori*. La valeur nutritive de la feuille de mûrier influe considérablement sur la croissance du ver à soie. Le contenu en eau des feuilles de mûrier peut être utilisé comme l'un des critères pour évaluer la qualité de la feuille (Parpiev, 1968). Des corrélations positives ont été découvertes entre la capacité de rétention de l'humidité et l'épaisseur de la cuticule foliaire (Susheclamma et Jolly, 1986). Les composants en cire de la cuticule permettent de rendre la surface imperméable et la cire incluse dans la cuticule est très importante pour la résistance à la sécheresse (Martin et Scott, 1957 ; Hall et Jone, 1961 ; Denna, 1970) et on considère qu'elle tient un rôle majeur dans l'économie de l'eau des feuilles.

Les cuticules de la plante et la cire des cuticules influencent l'absorption foliaire, l'invasion fongique, la perte en eau et l'adaptation au stress du manque d'eau. La qualité et la quantité de cire sur la surface foliaire jouent un rôle dans la résistance et la sensibilité des plantes à la maladie et au stress (Kumar, 1974). La connaissance de la cire est importante dans l'interprétation des réactions de la plante à l'environnement et, en agriculture, pour déterminer les variétés résistant à la maladie et à la sécheresse.

Peu d'études ont porté jusqu'à présent sur le mécanisme de la rétention de l'eau chez les feuilles de mûrier sur les souches résistant à la sécheresse qui permettraient d'augmenter le rendement en feuilles à l'hectare en l'absence d'irrigation. La documentation sur la cire n'est pas très détaillée. De ce fait, une analyse quantitative de la cire sur la surface foliaire chez dix cultivars de mûrier a été effectuée afin de déterminer le rôle de la cire dans la résistance de différentes variétés à la maladie et à la sécheresse.

* Professeur, Department of Botany, V.V. Pura College of Science, K.R. Road, Bangalore - 560 004, Inde.

MATERIELS ET METHODES

Pour l'étude qui suit, cinq cultivars locaux et cinq cultivars exotiques provenant de la collection de Jnanabharathi Campus (Bangalore, Inde) ont été sélectionnés.

Souches locales :

(1) Berhampore, (2) Kajli, (3) M₅, (4) S-41, (5) S-54.

Souches exotiques :

(1) Goshocerami, (2) Kosen, (3) Okinova-2, (4) Philippines, (5) Tsukasaguwa.

Des feuilles saines de chaque cultivar, exemptes de blessures visibles et à différents âges -soit des feuilles des 1^{er}, 5^{ème}, 10^{ème}, 15^{ème}, 20^{ème} et 25^{ème} ordres- ont été prélevées. Les feuilles ont été entièrement lavées à l'eau plate puis à l'eau distillée. Les feuilles fraîches ont été mesurées afin de déterminer leurs surfaces totales (inférieure et supérieure) par la méthode du papier millimétré. Elles sont ensuite mises en incubation à 30°C pendant 24 heures. Les stomates sont fermés durant l'incubation et les feuilles fanées, ce qui permet de réduire au minimum l'extraction de substances autres que la cire des parties internes de la feuille.

Le chloroforme est couramment utilisé comme solvant pour extraire la cire (Dewey et coll., 1962 ; Fernandes, 1965 ; Holloway, 1969) et on a démontré qu'il permettait d'enlever de manière efficace la cire de la surface des feuilles (Fernandes, 1964).

Les feuilles incubées de chaque cultivar sont plongées individuellement en les agitant doucement pendant 20 à 30 secondes dans quatre bechers successifs, chacun de ces bechers contenant 20 ml de chloroforme à température ambiante. Les solutions sont mélangées et séchées dans un flacon pré-pesé à 70°C. Un séchage supplémentaire d'une nuit a été effectué dans un four à 50°C pour éliminer l'odeur du chloroforme et les flacons sont pesés pour déterminer la quantité totale en cire. Les expériences sont répétées trois fois.

RESULTATS

La quantité de cire sur la surface foliaire extraite de cinq cultivars locaux et de cinq cultivars exotiques est donnée respectivement dans les figures 1 et 2. Celles-ci montrent clairement que la quantité de cire est corrélée à l'âge des feuilles et au cultivar de mûrir. La quantité minimum de cire foliaire ($5,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) se trouve chez les feuilles du 1^{er} ordre, et la quantité maximum ($12,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) chez les feuilles du 20^{ème} ordre.

La figure 1 indique la quantité de cire foliaire extraite des cinq cultivars locaux. Elle révèle que la quantité minimale de cire se trouve chez Kajli, la quantité maximale chez S-54 et une quantité intermédiaire chez M₅, S-41 et Berhampore.

La quantité de cire extraite des feuilles des variétés exotiques est illustrée dans la figure 2. Celle-ci montre que Philippines contient la quantité minimum de cire alors que Goshocerami contient la quantité maximum. Okinova-2, Tsukasaguwa et Kosen ont des quantités intermédiaires.

Il est également évident, d'après les figures 1 et 2, que la quantité de cire foliaire extraite chez les variétés exotiques est plus élevée par rapport aux variétés locales et le mode d'accumulation de la cire pratiquement identique.

DISCUSSION

La production de cire commence peu après la sortie de la feuille (Freeman et Turner, 1985 ; Schieferstein et Loomis, 1956). La maturité des feuilles influence fortement le dépôt de cire et la quantité de cire diminue en même temps que la feuille vieillit.

Il est évident d'après les figures 1 et 2 que le dépôt de cire commence chez les feuilles du 1^{er} ordre puis décroît progressivement après la 20^{ème} feuille. Des variations marquées du degré de formation de la cire apparaissent entre les feuilles de différents cultivars et entre les feuilles de différents âges (Fig. 1 et 2). La quantité de cire déposée semble être déterminée génétiquement.

On considère que le dépôt de cire joue un rôle important dans l'économie de l'eau des plantes. Mais Schieferstein et Loomis (1956) n'ont trouvé aucune corrélation directe entre la quantité de cire présente sur la surface et l'adaptation xéromorphique. Cependant, ils sont arrivés à la conclusion que c'est la couche cuticulaire continue plutôt que le dépôt de cire sur la surface qui constitue le facteur principal de conservation de l'eau. Des corrélations positives ont été trouvées entre la rétention de l'humidité et l'épaisseur de la cuticule de la feuille (Susheelamma et Jolly, 1986). Mueller, Carr et Loomis (1954) ont suivi le développement de la cire sur la surface des feuilles chez les espèces du genre *Musa* et ont conclu que la cire s'épanchait sous forme d'une pâte molle à travers la cuticule intacte. Kurtz (1950) a découvert, au cours d'une expérience, que la formation de cire réelle était proportionnelle à l'épaisseur de la cuticule. Nos observations (Fig. 1 et 2) montrent clairement que S-54, M₅, Goshocrami, Okinova-2 et Tsukasaguwa contiennent des quantités totales plus élevées de cire sur la surface foliaire. Les cultivars de mûrier ayant une quantité de cire superficielle plus importante peuvent être cultivés avec succès en l'absence d'irrigation, et ce caractère recherché sera utilisé dans des programmes culturels afin d'obtenir des variétés résistant à la sécheresse. Les variétés de mûrier exotiques ont une quantité totale de cire sur la surface foliaire plus élevée que les variétés indigènes. Aussi, ces cultivars peuvent être exploités en programme de culture combinés avec des variétés locales à haut rendement.

RHIZOGENESE INDUITE CHEZ *MORUS ALBA* L.

L. CAPPELLOZZA*, P. GIULINI** & R. MORELLATO**

* Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura di Padova, Via delli Colli 28, 35100 Padova, Italie

** Dipartimento di Biologia, Sezione Geobotanica, Università degli studi di Padova, Italie.

Sur des boutures des variétés florio et morettiana de Morus alba L., traitées par stimulant rhizogène (acide indol butyrique : AIB) et réchauffement basal, ont été prélevés des échantillons de 2 cm de longueur à partir de l'extrémité basale, à intervalles de temps réguliers à 2, 5, 7, 9, 10, 12 et 14 jours. Ces échantillons ont été fixés dans de l'acide formacétique (AFA). Des échantillons de boutures non traitées ont également été prélevés pour constituer les témoins.

Des coupes ont été effectuées sur tous les échantillons ; le cryotome a été employé pour les échantillons provenant de boutures non traitées alors que, pour les boutures traitées, il a été nécessaire d'utiliser le microtome à bois de JUNG après déshydratation dans de l'alcool et inclusion dans de la paraffine.

Pour la coloration générale, on a utilisé la safranine vert lumière, alors que la coloration histochemique des carbohydrates insolubles a été réalisée avec de l'acide périodique - réactif de Schiff. Le montage des lamelles de verre a été effectué avec du Baume du Canada.

En observant les coupes transversales et tangentielles des échantillons traités et non traités, ces derniers servant de référence, on a constaté que les agents rhizostimulants entraînent un changement de la topographie histologique de la bouture en provoquant la multiplication du cambium et du phelloderme et la croissance des cellules parenchymateuses.

Après 9 jours de traitement, l'activité mitotique du cambium donne naissance à un tissu homogène, constitué de cellules ayant conservé la capacité de se diviser, mais qui sont encore morphologiquement identiques, de mêmes dimensions avec des parois et une coloration semblables.

Au 9ème et 10ème jour du traitement, certaines de ces cellules s'organisent donnant naissance aux premières racines.

Puisque dans tous les échantillons traités et examinés on a observé la même évolution histologique, on peut affirmer que les cellules du cambium sont à l'origine des premières racines. Aucune différence substantielle n'a été constatée entre les deux variétés de mûrier au cours de l'étude.

Mots-clés : Mûrier, rhizogenèse, histologie.

INTRODUCTION

Il y a quelques années à l'ISZA (Section spécialisée dans la bacologie de Padoue), la technique de multiplication des mûriers par bouturage ligneux a été mise au point (A. Meneghini et coll., 1986).

Cette étude a été réalisée afin de montrer l'aspect histologique de la rhizogenèse chez les boutures de *Morus alba* L.

Les deux objectifs principaux de cette étude sont :

- La détermination des tissus où naissent et se différencient les méristèmes rhizogènes.
- La description des modifications morphologiques tissulaires liées à la rhizogenèse.

Pour cela, des boutures de deux variétés sauvages de *Morus alba* L. ont été choisies, *florio* et *morettiana*, dont les feuilles sont très utilisées dans l'alimentation de *Bombyx mori* L.

Il faut noter que les résultats obtenus peuvent servir d'indication pour d'autres variétés de cette espèce mais on ne peut les généraliser, surtout si des traitements rhizogènes-stimulants autres que ceux cités dans cette étude sont utilisés.

Cette recherche est donc utile soit pour enrichir les connaissances histologiques des tissus rhizogènes des diverses variétés de *Morus* soit parce qu'elle donne des indications de base pour d'éventuels essais de micropropagation de fragments d'organes.

MATERIELS ET METHODES

Préparation, traitement et forçage des boutures :

Les boutures de 20 cm environ, proviennent de branches lignifiées droites, sans blessures, de diamètre compris entre 0,4 et 1,2 cm. Les branches récoltées au début février sur des plantes mères bien nourries et ne présentant aucune forme pathologique ont été coupées de façon très nette perpendiculairement à l'axe de croissance et en dessous d'un noeud (Meneghini et coll., 1986).

Les boutures ainsi obtenues sont assemblées en bottes (Fig. 1) en conservant une polarité homogène des bourgeons. Les bottes sont plongées sur une hauteur ne dépassant pas 2 cm pendant 5-6 secondes dans une solution alcoolique d'acide gamma-3-indolbutyrique (AIB) à 2000 ppm que les résultats expérimentaux indiquèrent comme la concentration la plus efficace.

Les branches sont alors placées sur des tables thermorégulables, la zone basale traitée reposant directement sur le plateau chauffé à une température de 25°C qui semble être la température la plus adaptée à la stimulation rhizogène.

Les espaces vides entre les lots de boutures ont été remplis d'une couche d'agriperte granulaire de 8-10 cm, mélangée soit avec un isolant thermique soit avec un substrat hydrophile et maintenue toujours légèrement humide afin d'éviter la déshydratation des boutures. La température ambiante ne dépasse pas 8°C, afin d'éviter la reprise végétative des bourgeons dont l'activité tend à inhiber la capacité rhizogène des boutures.

Prélèvements et préparation des échantillons :

Dix branches traitées avec IBA et soumises à un réchauffement basale ont été prélevées dans chacune des deux variétés à intervalles réguliers le 2ème, 5ème, 7ème, 9ème, 10ème 12ème et le 14ème jour après le début du traitement stimulant la rhizogenèse.

Des échantillons de 2 cm de long environ ont été taillés à partir de l'extrémité basale des boutures pour effectuer des observations histoanatomiques au microscope. Le matériel obtenu a été fixé dans de l'acide formacétique (AFA) pendant 24 heures (Jensen, 1962).

Au bout de 24 heures, les échantillons sont enlevés du fixateur et placés pendant deux jours dans une bassine d'eau. Les échantillons sont conservés dans des récipients hermétiquement fermés, remplis d'eau et de thymol afin d'éviter le développement de moisissures.

Outre les échantillons provenant des boutures traitées, des échantillons de boutures non traitées ont été prélevés afin de bien mettre en évidence les modifications morphologiques liées à la production de racines adventives chez les boutures soumises à des stimulations rhizogènes.

Coupes des échantillons :

Les échantillons non traités et non fixés ont été coupés à l'aide d'un cryotome qui, utilisé à une température comprise entre -16°C et -25°C, permet d'obtenir de très bonnes coupes (15 micromètres d'épaisseur) sans avoir recours au microtome à ruban qui aurait nécessité l'inclusion du matériel dans de la paraffine.

Fig. 1 : Table thermorégulable comportant plusieurs lots de boutures soumis au traitement rhizogène.

Fig. 1 : Thermoregulated table containing several batches of cuttings subjected to the rhizogenic treatment.

Fig. 2 : Coupe transversale d'une jeune branche de *Morus alba* L. var. *morettiana*.

*Fig. 2 : Transversal section of a young branch of *Morus alba* L., *morettiana* variety.*

Fig. 3 : Coupe longitudinale tangentielle du cambium chez *Morus alba* L. var. *morettiana*.

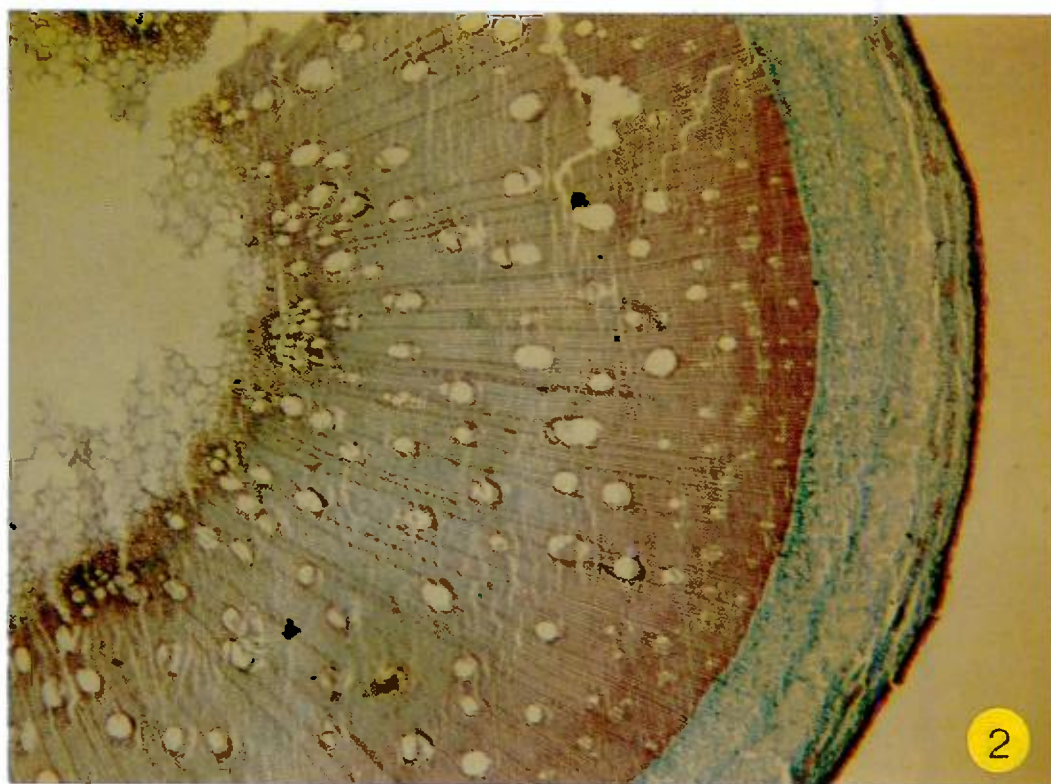
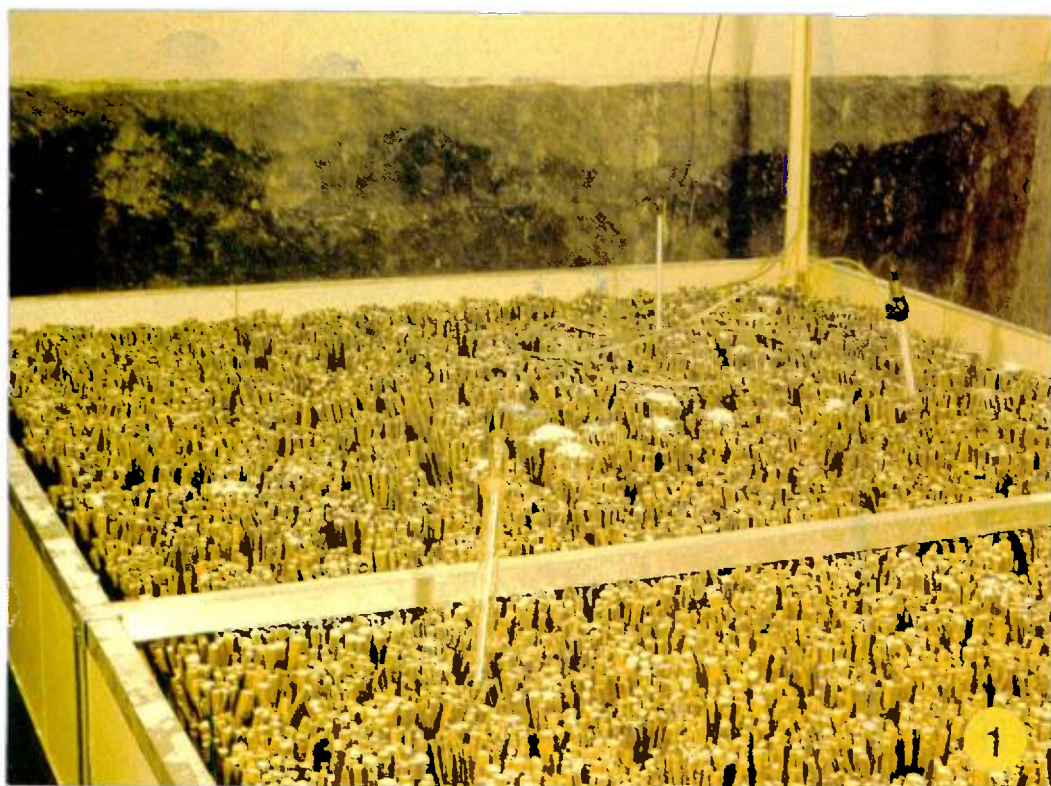
*Fig. 3 : Tangential longitudinal section of the cambium in *Morus alba* L., *morettiana* variety.*

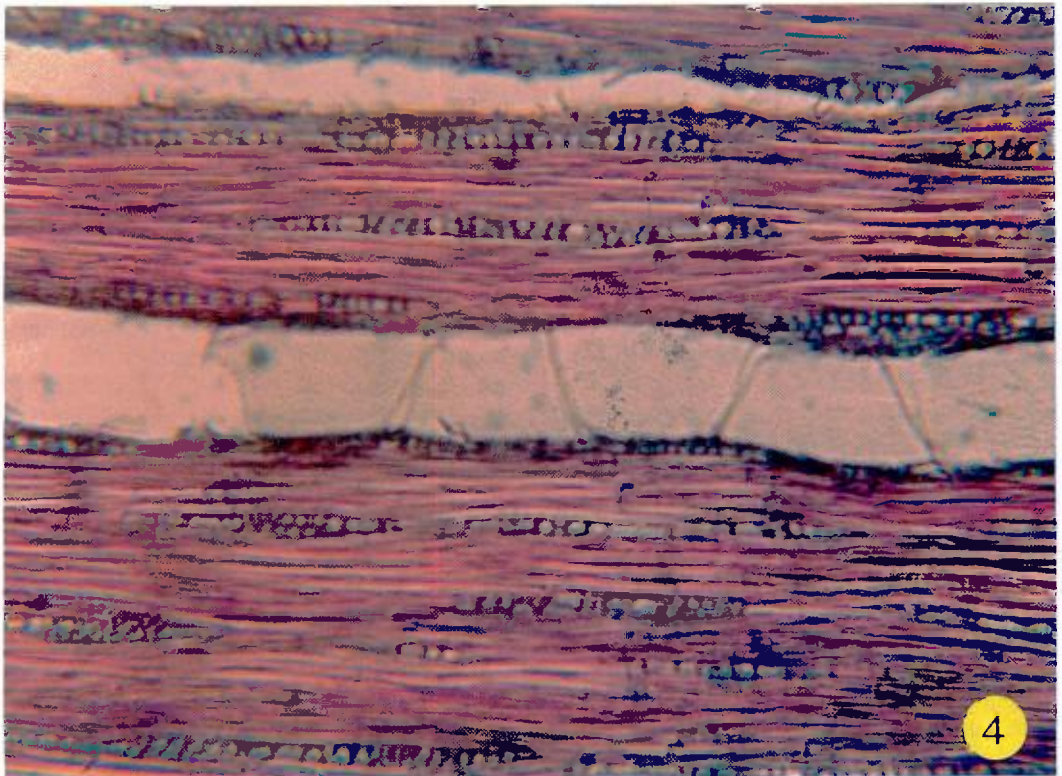
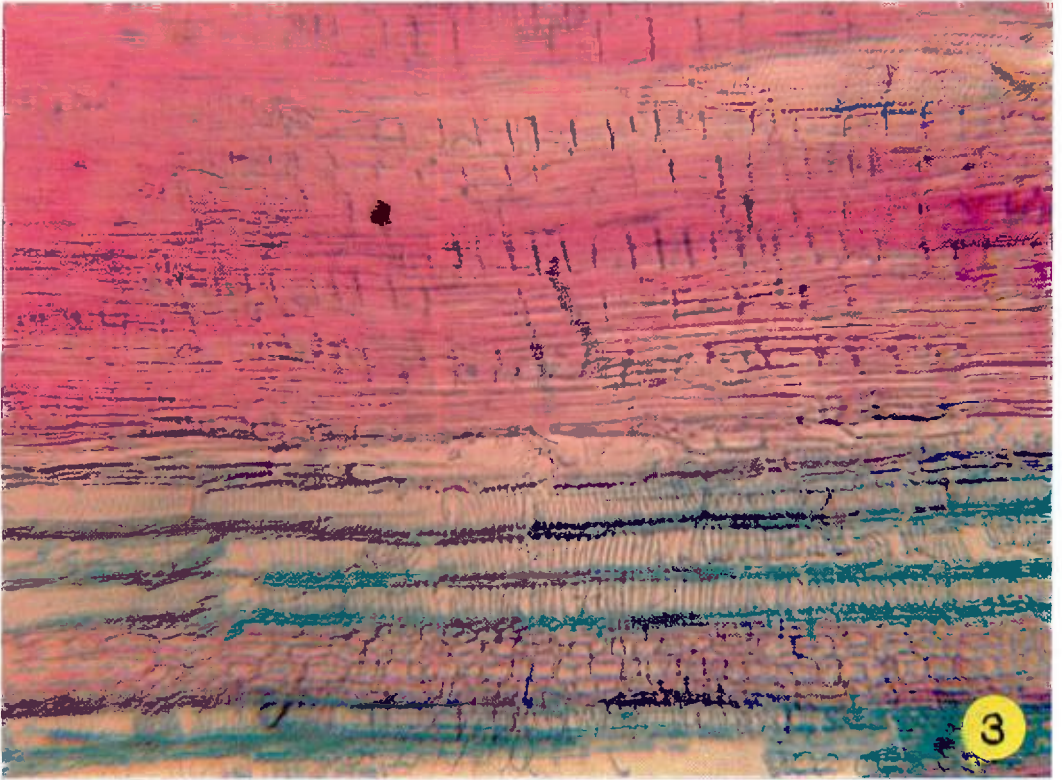
Fig. 4 : Coupe longitudinale tangentielle au niveau du xylème de *Morus alba* L.

Individualisation d'un vaisseau constitué de ses éléments simples et des fibres dans lesquelles on distingue les rayons parenchymateux.

*Fig. 4 : Tangential longitudinal section at xylem level in *Morus alba* L.*

Identification of a vessel made of its own primary elements and of the fibres in which the parenchymatous rays can be perceived.





Dans les échantillons prélevés des boutures soumises à stimulation rhizogène et donc fixés, les meilleures coupes ont été obtenues avec le microtome à bois de JUNG, car les défauts de coupe sont considérablement réduits (lignes de fracture et désagrégation des tissus) par rapport à l'utilisation du cryotome mais aussi du microtome à paraffine, qui n'aurait pas permis une observation histologique claire des tissus.

Avant de faire les coupes, le matériel a été déshydraté dans l'alcool éthylique et butylique et inclus dans un produit à base de paraffine (température de fusion 60°C). Toutes les coupes obtenues sont disposées, avant passage dans de l'eau à 40°C favorisant une plus grande distension, sur des lames de verre couvertes d'une fine pellicule de glycéralbumine.

Pour la coloration générale on a utilisé la safranine vert lumière, alors que l'acide périodique -réactif de Schiff - a été employé pour la coloration histochimique des hydrates de carbone insolubles. Pour le montage des lamelles, on a utilisé du Baume du Canada.

RESULTATS ET DISCUSSION

La morphologie de la tige au temps 0, c'est-à-dire en fin d'hivernation et sans aucun traitement, est le point de comparaison pour évaluer l'évolution des tissus de la tige au cours du racinement des boutures traitées.

Après de nombreuses observations sur les boutures provenant des deux variétés, on a constaté qu'il n'existait aucune différence de structure anatomique ; un seul modèle a donc été adopté pour les deux variétés.

Sur les coupes transversales et tangentielles des tiges de *morettiana*, on a pu faire les constatations qui suivent :

Moelle :

Au centre de la tige se trouve la zone médullaire constituée de cellules parenchymateuses avec de fines cloisons non lignifiées. Les cellules sont isodiamétriques avec de larges espaces cellulaires (Fig. 2).

Xylème :

Le xylème commence avec les parties xylémateuses des faisceaux primaires, d'origine apicale, entourés d'une couche de cellules avec des cloisons épaisses et lignifiées (Fig. 2). Les éléments conducteurs d'origine primaire, de type trachéidale, à lumière réduite par rapport aux vaisseaux de bois secondaires, présentent des épaississements de type spiralé.

Le xylème secondaire est un bois à porosité diffuse avec des gros vaisseaux de printemps en nombre limité et dont le diamètre de la lumière varie entre 50 et 150 µm (Fig. 4). Ce n'est qu'à proximité du bois tardif que l'on peut observer des vaisseaux plus petits et plus nombreux (Greguss, 1959). Les conduits xylémateux de production primaire possèdent exclusivement des épaississements spiralés et sont de plus petit diamètre, les secondaires présentent, quant à eux, des épaississements sur toute la surface latérale de chaque élément, interrompus seulement de nombreuses zones où la cloison est moins épaisse : il s'agit de vaisseaux criblés. Les parois transversales de chaque élément vasculaire sont résorbées.

Comme le constate également Greguss (op. cit), le parenchyme axial constitue des bandes à l'intérieur du xylème. On trouve aussi, bien entendu, un tissu mécanique composé d'un grand nombre de fibres avec des parois épaisses et lignifiées (Fig. 4). Les rayons parenchymateux sont nombreux et formés de différentes assises (10-30 éléments) constituées de deux et, plus rarement, d'une ou de trois séries de cellules allongées radialement (Fig. 4).

Cambium :

Lors du prélèvement, le cambium est constitué d'une file régulière de cellules méristématiques et parfois de certaines cellules dont elles dérivent non encore différenciées, apparemment en repos (Fig. 5).

Fig. 5 : Coupe transversale au niveau du cambium de *Morus alba* L. var. *morettiana*.

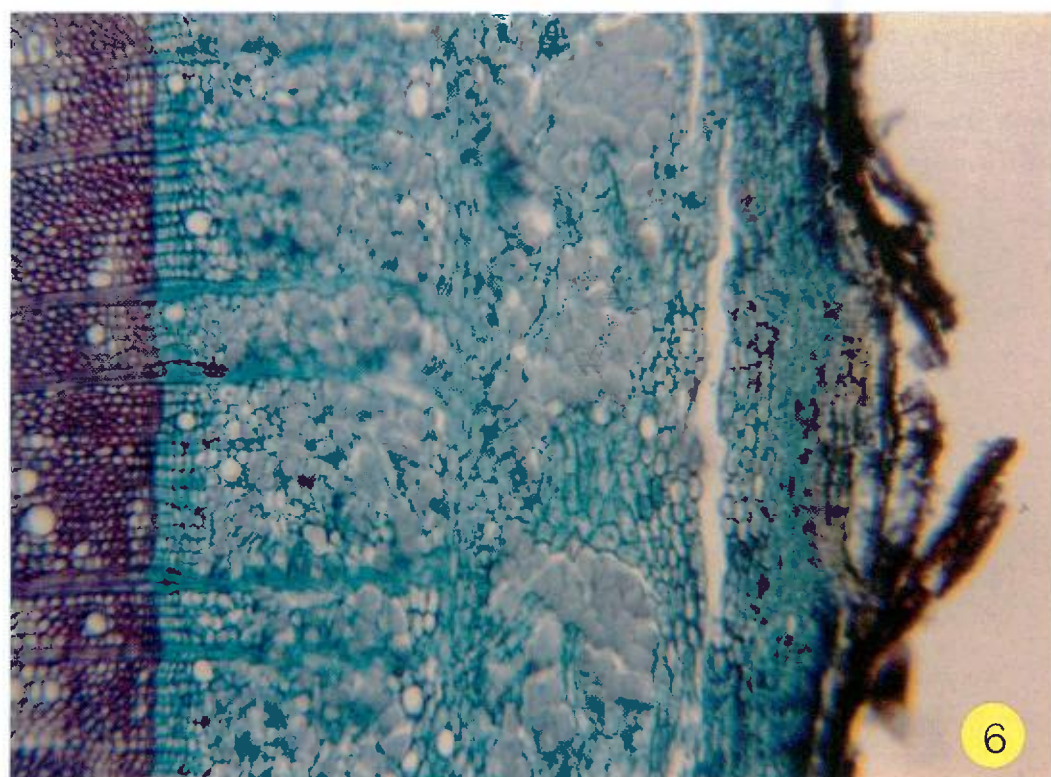
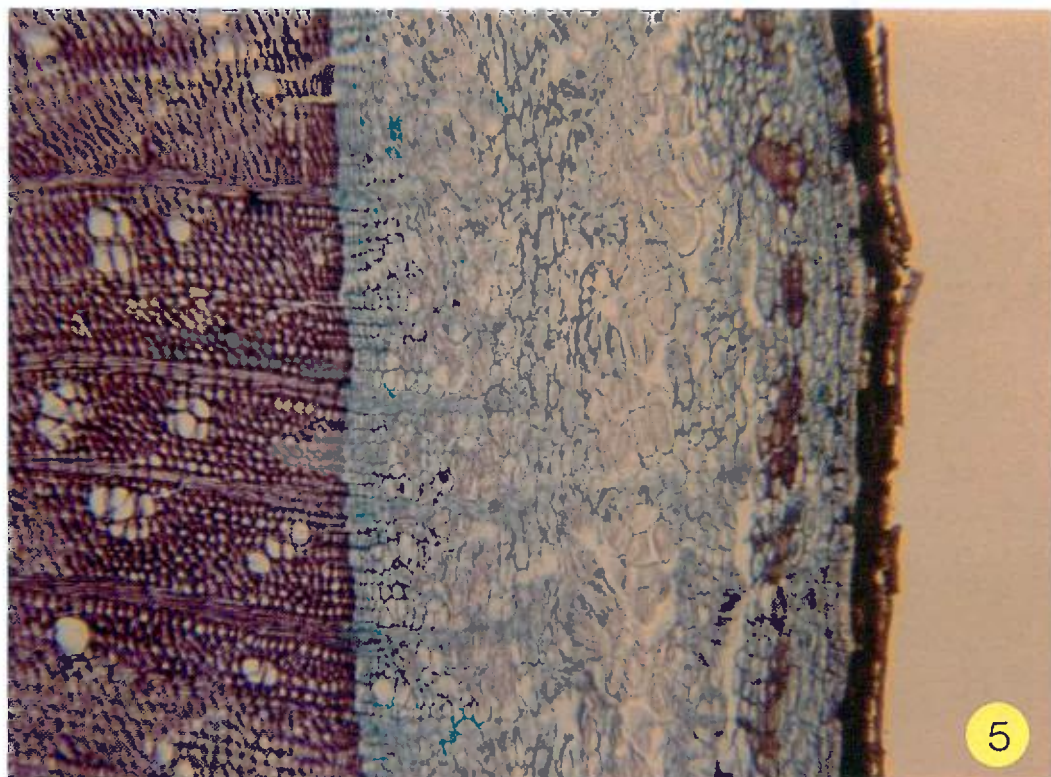
Fig. 5 : *Transversal section at cambium level in Morus alba L., morettiana variety.*

Fig. 6 : Coupe transversale au niveau du phloème de *Morus alba* L. var. *florio* .

On distingue les fibres de liber à la paroi épaisse.

Fig. 6 : *Transversal section at phloem level in Morus alba L., florio variety.*

One can distinguish the thick-walled liber fibres.



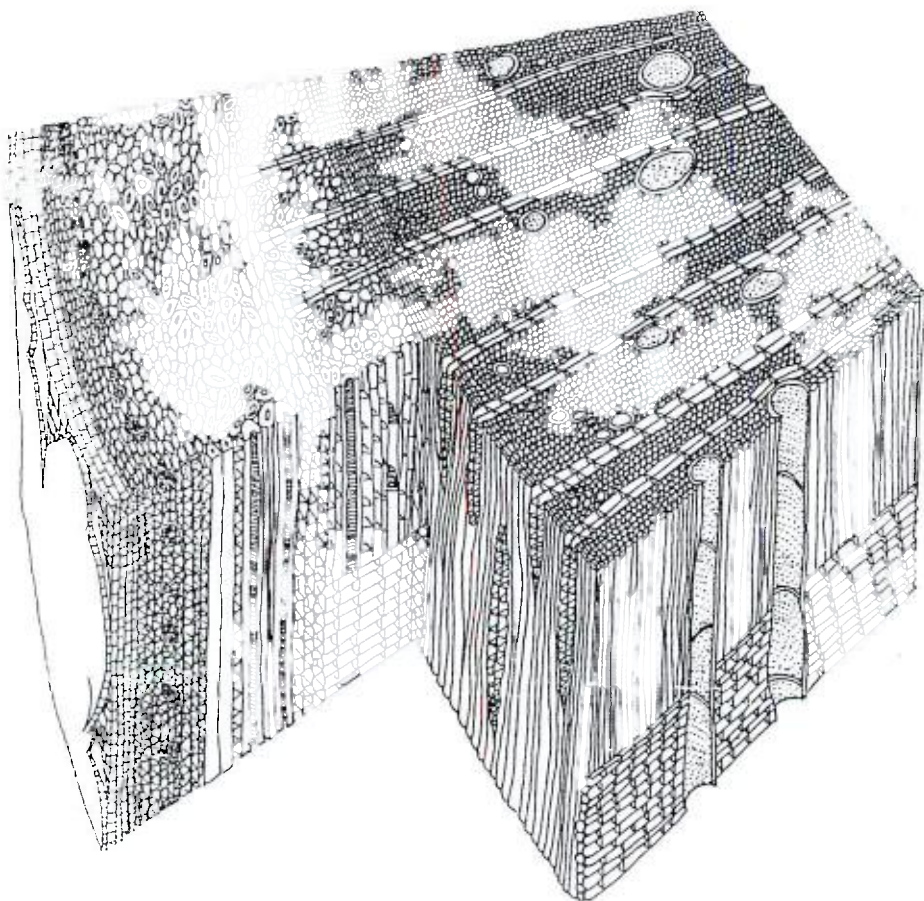


Fig. 7 : Aspect en perspective d'une tige de *Morus alba* L. d'un an var. *florio* et *morettiana*.
Fig. 7 : Perspective view of a one-year-old *Morus alba* stem, *florio* and *morettiana* varieties.

Phloème :

L'anneau de phloème est divisé en secteurs rectangulaires dans les rayons parachymateux et composé de tubes criblés, de cellules compagnes, de cellules parenchymateuses et de fibres libres de diamètre et longueur importants ; ces dernières sont disposées de manière désordonnée et tendent à être plus nombreuses vers l'extérieur (Fig. 5).

Zone corticale :

La zone corticale commence derrière le phloème avec trois files concentriques de cellules de diamètre moyen et de type parenchymateux, alignées de façon très ordonnées et allongées dans le sens tangentiel. Celles-ci contribuent ensemble à la fermeture des rayons parachymateux et délimitent précisément le phloème en secteurs rectangulaires.

Dans la zone corticale suivante, le tissu mécanique est prépondérant, constitué de grosses fibres à parois épaisses lignifiées qui obstruent quasiment la lumière cellulaire (Fig. 6). Sur les coupes transversales, elles se présentent écrasées selon une direction alors que, sur les coupes tangentielles, on peut établir qu'elles sont très allongées axialement.

Les fibres ne sont pas isolées mais réunies en groupes de 10 à 20 unités, chaque groupe étant entouré de cellules parenchymateuses corticales qui ne sont pas alignées de manière ordonnée (Fig. 6).

A l'extérieur de cette zone hétérogène, le parenchyme cortical est formé d'une dizaine de files concentriques de cellules parenchymateuses, arrondies ou légèrement comprimées radialement, bien alignées, plus petites que les cellules parenchymateuses entourant les fibres corticales. Ces cellules forment un tissu compact avec des espaces intercellulaires réduits, dans lesquels on trouve une couche discontinue de tissu sclérenchymateux qui, observée sur les coupes transversales, se situe à peu près vers la partie médiane de cette partie du cortex (Fig. 6-7).

A l'extérieur de la dernière couche de cellules parenchymateuses corticales se trouve le tissu phellogène qui, de par son activité diploïque, donne le phelloderme vers l'intérieur et le liège à l'extérieur. Ce dernier est constitué de trois couches de cellules concentriques de suber comprimées radialement.

L'épiderme :

A l'extérieur de la couche de liège, on distingue encore des petits morceaux d'épiderme qui ont perdu leur fonction. A ce stade, il s'agit d'un tissu mort avec de nombreuses et larges lacérations et en voie de desquamation (Fig. 7).

Anatomie de la rhizogenèse chez *Morus alba L. var. morettiana*

Les activités tissulaires induites par des traitements radicaux, c'est-à-dire la croissance des parenchymes corticaux, le développement des nouveaux tissus méristématiques et la croissance du phellogène entraînent des modifications structurelles qui s'étendent progressivement le long de la bouture en partant de la zone basale jusqu'à 15-20 mm.

La croissance des tissus corticaux entraîne des formations calleuses (Cormacx et Lemay, 1966), ce développement provoquant la rupture des tissus externes (épiderme et liège) formant des protubérances brunes-jaunâtres que l'on distingue parfaitement entre le 12^{ème} et le 14^{ème} jour après le traitement (Fig. 8).

Les nouvelles racines apparaissent sur la bouture au niveau de ces formations calleuses. Sur les boutures où l'ontogenèse radicale est plus avancée, les premiers "bourgeons" radicaux apparaissent au bout de 12 jours au lieu de 14, les boutures présentant généralement des touffes de racines turgescentes adventives néoformées (Fig. 9).

Au microscope, l'aspect histologique des échantillons traités est modifié du fait de l'évolution de la rhizogenèse.

Après 2 jours :

Les boutures prélevées deux jours après le traitement ne montrent pas encore de modifications histologiques, mais on suppose que cette phase initialise les modifications métaboliques cellulaires avec dilatation des noyaux et des nucléoles et augmentation de la biosynthèse des macromolécules

Fig. 8 : Echantillons des boutures traitées prélevés (en allant de gauche à droite et de haut en bas) au 7ème, 9ème, 12ème et 14ème jour après le traitement.

Fig. 8 : Treated cutting samples taken (from left to right and from top to bottom) on the 7th, 9th, 12 and 14th day after the treatment.

Fig. 9 : Echantillon d'une bouture de *Morus alba* L var. *morettiana* prélevé après 14 jours de traitement.

Noter la partie calleuse et les trois racines déjà sorties, l'une d'entre elles atteint près d'un centimètre.

Fig. 9 : Sample of a cutting of Morus alba L. moriettana variety, taken after 14 days' treatment.

Note the callous part and the three roots already emerged, one of them is nearly one centimeter long.

Fig. 10 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana*, 5 jours après le traitement.

A l'extérieur du xylème on note une prolifération cambiale avec production de quelques files de cellules dérivées.

Fig. 10 : Transversal section of a cutting of Morus alba L., morettiana variety, 5 days after the treatment.

Outside the xylem, one notes cambium proliferation with production of a few derived cells layers.

Fig. 11 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana*, 7 jours après le traitement.

Prolifération cambiale entre le xylème et le phloème, poussant celui-ci vers l'extérieur.

Fig. 11 : Transversal section of a cutting of Morus alba, L., morettiana variety, 7 days after the treatment.

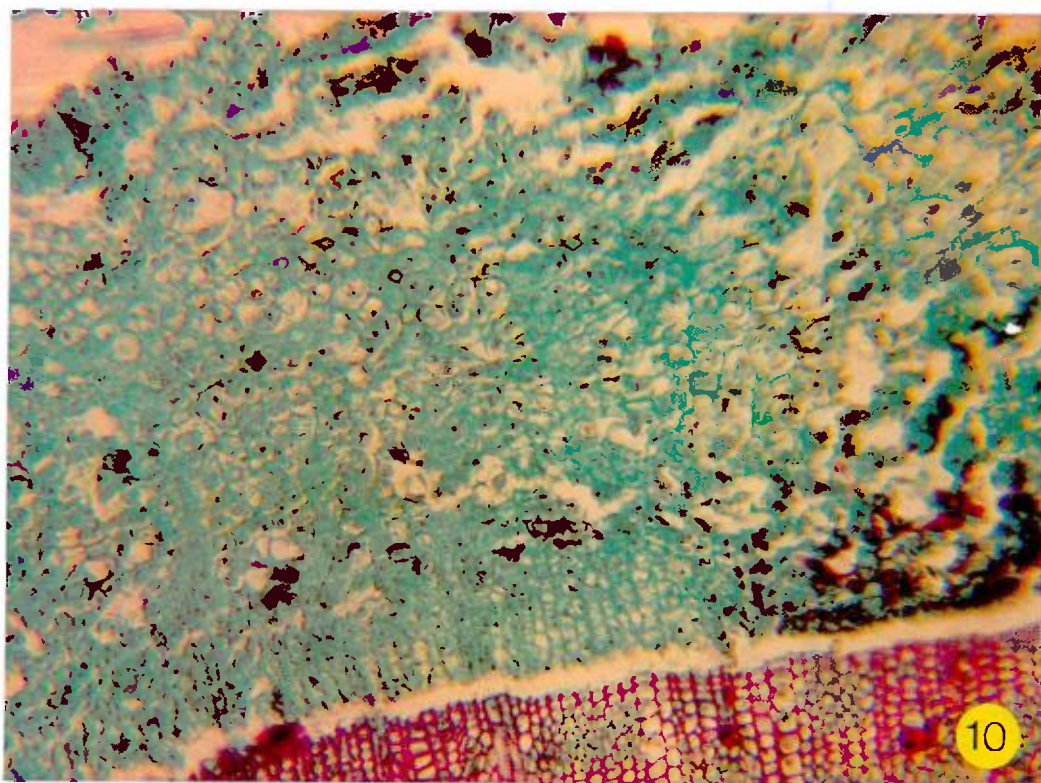
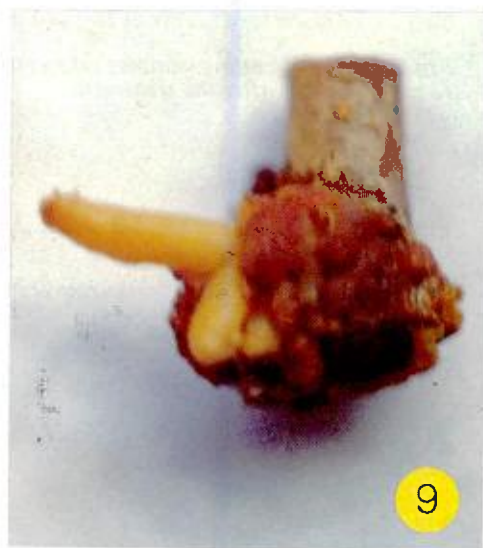
Cambium proliferation between the xylem and the phloem, thrusting the latter towards the outside.

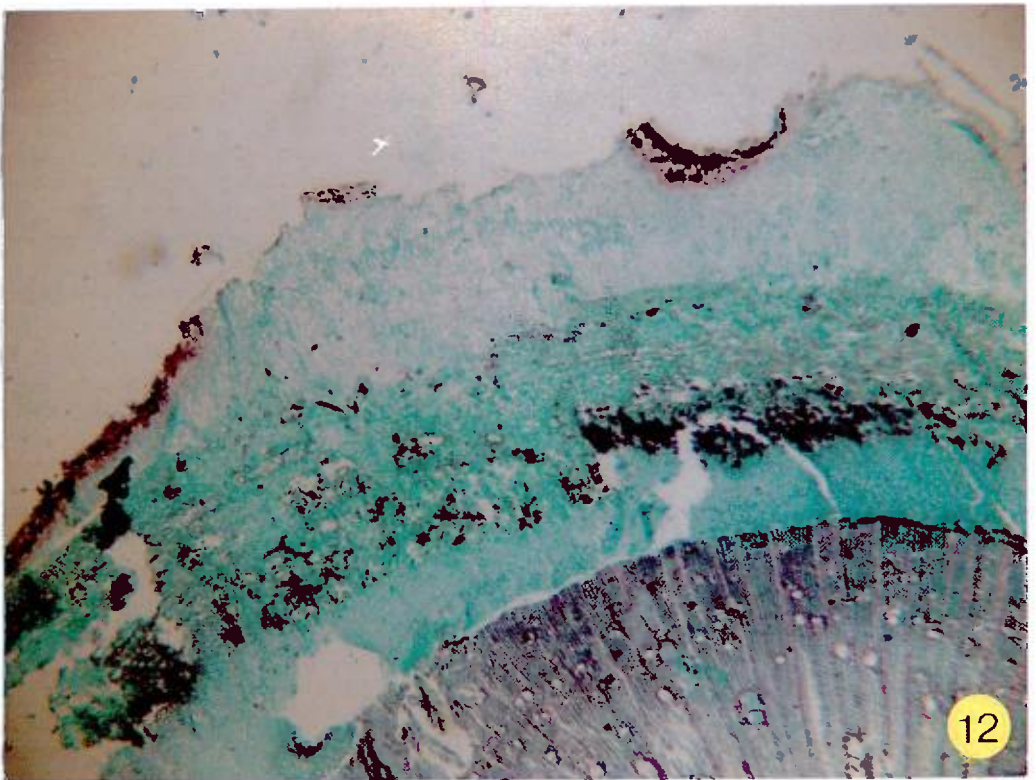
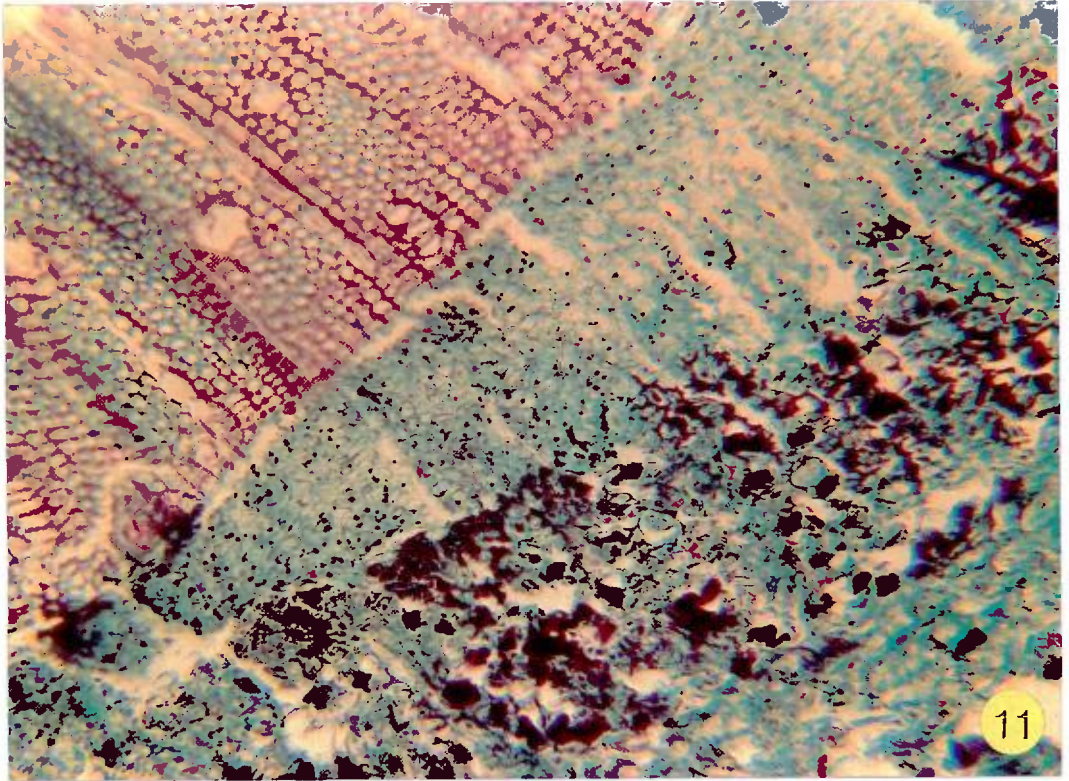
Fig. 12 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana*, 9 jours après le traitement.

On constate extérieurement la multiplication corticale qui provoque la cassure du liège et des lenticelles. A l'intérieur, la croissance cambiale s'insinue dans le phloème, et interrompt sa continuité.

Fig. 12 : Transversal section of a cutting of Morus alba L., morettiana variety, 9 days after the treatment.

One notices externally the cortical multiplication which causes the cork and the lenticels to break. Inside, cambium growth inserts in the phloem and stops its continuity.





qui précèdent le début des divisions cellulaires (Buvat, 1944). Cet auteur ajoute que ces variations du métabolisme cellulaire ne concernent pas les cellules qui ont successivement contribué au développement des premières racines.

Après 5 jours :

Sur toutes les coupes des boutures prélevées 5 jours après le traitement rhizogénostimulant, le démarrage de l'activité localisée dans le cambium induite par l'AIB et la température est évident ; l'interaction de ces deux éléments détermine la production de plusieurs couches de cellules dérivées (Fig. 10), cette prolifération ne concernant pas tout le cambium mais étant plus ou moins circonscrite dans certaines de ses parties.

Après 7 jours :

Après 7 jours, on constate sur toutes les coupes des échantillons que la multiplication du cambium concerne un plus grand nombre de cellules, chacune d'entre elles produisant, après divisions successives, une quinzaine de nouvelles petites cellules, arrondies, avec un noyau central : il s'agit de cellules méristématiques qui vont former un nouveau tissu homogène qui va s'intercaler entre le xylème et le phloème (Fig. 11). Les traitements radicaux induisent la reprise de l'activité méristématique même dans le phellogène, avec production de nouvelles cellules qui vont provoquer une plus grande croissance. Cette croissance concerne également les cellules du parenchyme cortical, et surtout les cellules externes de la zone sclérenchymateuse.

Ces modifications sont surtout visibles dans la zone proche de la base des boutures, c'est-à-dire celle qui a subi l'action de la température et de l'IBA. Comme ont pu le constater Médard et Fabre (1969), ces processus traduisent la formation d'un tissu de cicatrisation. Les modifications de l'écorce ne sont pas diffuses, mais localisées uniquement dans quelques zones. D'autre part, on constate une prolifération des cellules situées sous les lenticelles qui entraînera une rupture progressive des couches subérifiées qui obstruent les lenticelles. Comme l'ont déjà signalé Syed et Ahmad (1979), la croissance de ces cellules est provoquée par les hormones radicales.

Après 9 jours :

Après cette période, la masse de cellules nouvellement formées en rapport avec les lenticelles a atteint une dimension suffisante pour rompre les couches subérifiées qui obstruent les lenticelles (Fig. 2).

Dans les zones où le phellogène a été activé, la production de nouvelles cellules se poursuit, disposées en files radiales régulières qui démarrent subitement une croissance avec augmentation de leurs dimensions, surtout radialement. L'augmentation du volume des cellules du parenchyme cortical donne des cellules sphériques parce qu'elles ne migrent pas selon une direction préférentielle mais selon des directions divergentes de la zone primaire d'activation.

Ces néoformations corticales, "spongieuses", ne sont pas liées directement à la rhizogenèse, mais contemporaines et indépendantes, en fait les racines primaires proviennent des cellules produites dans d'autres zones. D'après les observations de Fabri et coll. (1985), ces formations semblent posséder la capacité de faciliter le passage tout d'abord de la racine primaire, puis de l'apex radical, vers l'extérieur ; il se peut également que celles-ci constituent une zone de protection de l'apex au tout début de sa formation avant même qu'il ne pousse à l'extérieur. D'une part, l'augmentation du volume des tissus corticaux exerce des pressions directes vers l'extérieur sur le liège qui provoquent ainsi de nombreuses cassures ; d'autre part, l'augmentation des dimensions cellulaires entraîne une diminution de la cohésion entre les cellules et une augmentation des espaces intercellulaires et provoque le développement des primordiums.

La zone corticale est aussi soumise à la force déterminée par l'augmentation en épaisseur du tissu méristématique néoformé d'origine cambiale qui pousse vers l'extérieur contre l'écorce et le phloème.

A environ un centimètre de la base des boutures, le phloème n'a plus une structure continue mais présente des cassures radiales dues au développement du tissu d'origine cambiale qui, malgré les ruptures, continue sa croissance multiplicative vers l'extérieur et se dirige vers le parenchyme cortical (Fig. 12). L'analyse microscopique de toutes les coupes des boutures soumises au traitement depuis

Fig. 13 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana* 10 jours après le traitement.

Au centre, présence de certaines racines primaires au début de leur différenciation.

Fig. 13 : Transversal section of a cutting of *Morus alba* L., *morettiana* variety, 10 days after the treatment.

In the middle, some primary roots at the beginning of their differentiation.

Fig. 14 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana*.

Les cellules cambiales dérivées nouvellement formées se différencient en nouveaux éléments xylémateux, alors qu'il n'existe pas de phénomènes rhizogènes.

Fig. 14 : Transversal section of a cutting of *Morus alba* L., *morettiana* variety.

Newly-formed derived cambium cells divide into new xylematous elements, whereas there are no rhizogenic phenomena.

Fig. 15 : *Morus alba* L. var. *morettiana* 12 jours après le traitement.

Coupe transversale d'un primordium radical se développant à proximité du bourgeon basal de la bouture ; on distingue une zone apicale avec des méristèmes radicaux et dessous une zone avec des cellules qui se distendent.

Fig. 15 : *Morus alba* L. *morettiana* variety 12 days after the treatment.

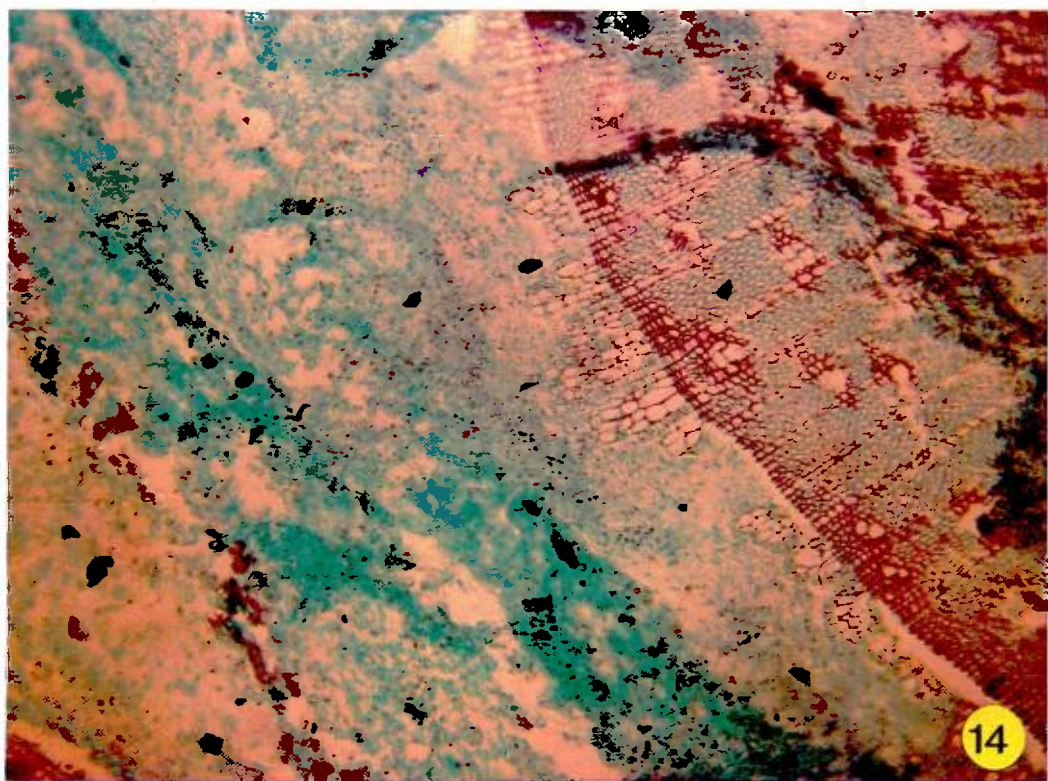
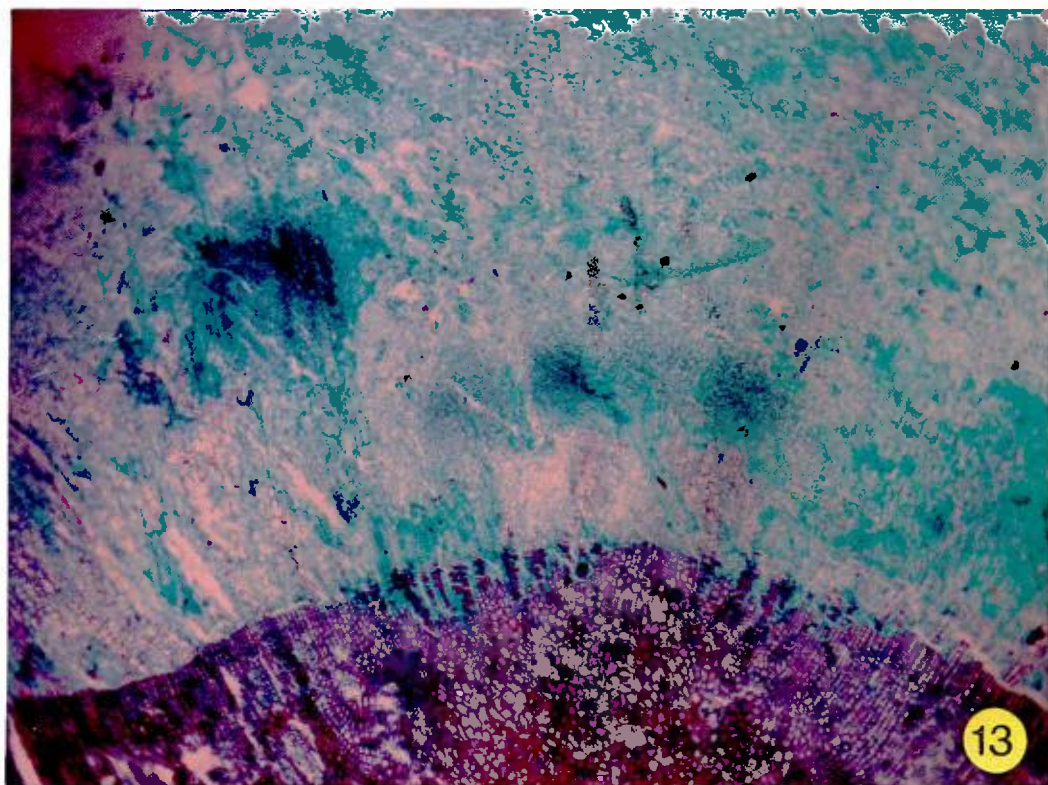
Transversal section of a root primordium developing in the vicinity of the cutting basal bud. An apical area can be perceived, with root meristem and beneath an area with distending cells.

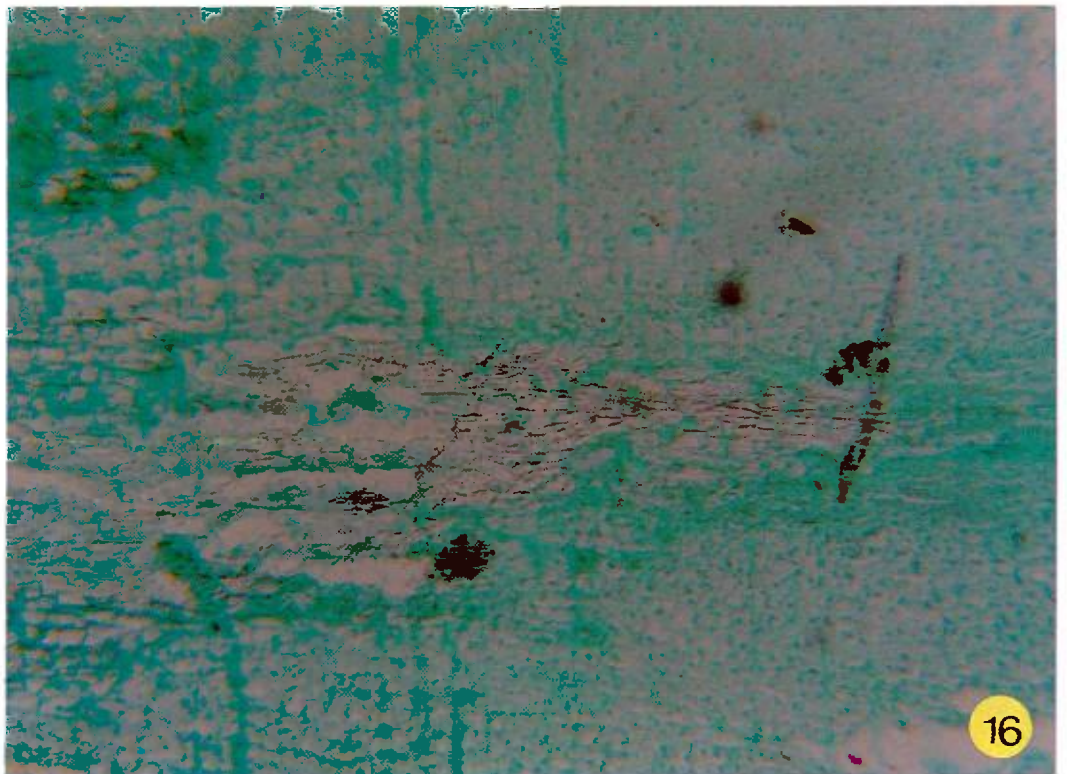
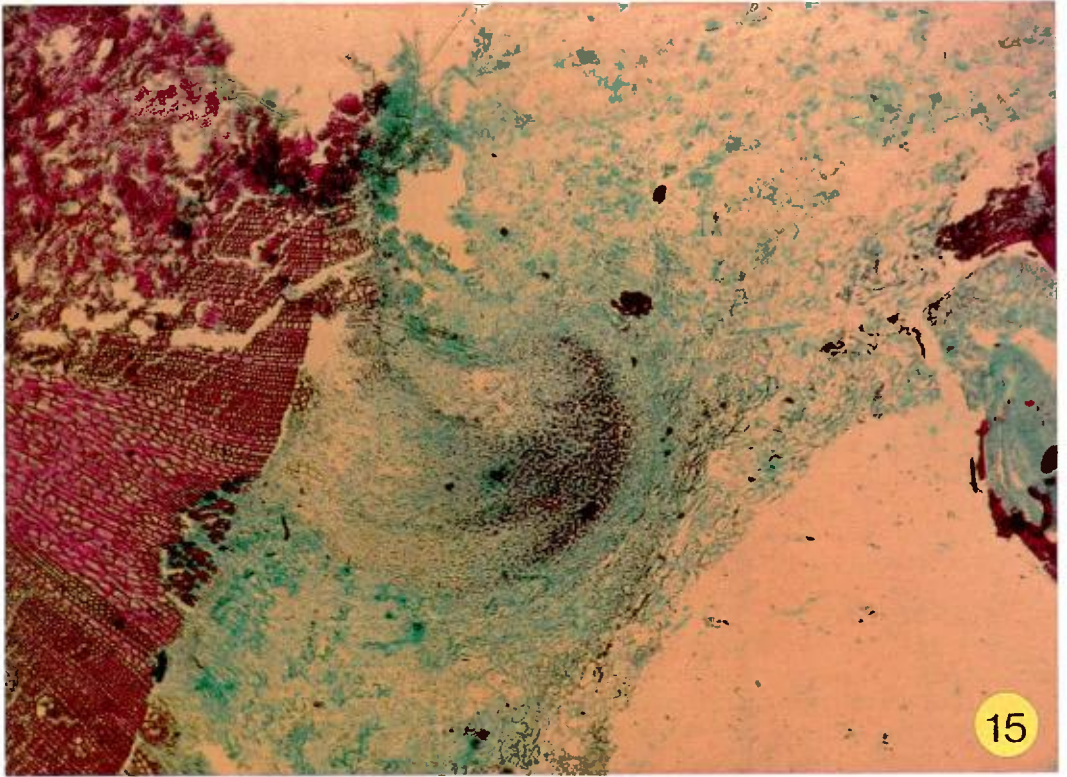
Fig. 16 : Coupe transversale d'une bouture de *Morus alba* L. var. *morettiana*, 12 jours après le traitement.

Particularité d'un primordium radical. On distingue certaines cellules différenciées en éléments conducteurs et un début d'épaississement en spirale des parois.

Fig. 16 : Transversal section of a cutting of *Morus alba* L., *morettiana* variety, 12 days after the treatment.

Singularity of a root primordium. One can see some cells dividing into conductive elements and the beginning of a helical thickening of the walls.





9 jours ne permet pas de localiser la présence des racines primaires (1), ni des cellules initiales (1), c'est-à-dire des ensembles cellulaires morphologiquement organisés.

Après 10 jours :

Au bout de 10 jours, on observe pour la première fois, sur certains échantillons, la présence de primordiums encore au début de leur formation. Ceux-ci sont constitués d'une nouvelle masse de cellules méristématiques (Fig. 3), dans lesquelles les divisions semblent être plus nombreuses que chez les cellules avoisinantes. Le méristème primordial (primordium) a une forme globulo-nodulaire et se développe surtout dans le sens radial, en s'allongeant contre la surface de la bouture.

Confirmant les observations de Bell et McCully (1970) sur le primordium et les cellules initiales, les mitoses ne s'effectuent pas selon une seule direction ; on note des divisions anticlinales, périclinales et obliques. Dans les primordiums, le processus de différenciation cellulaire n'a pas encore démarré, la première étape étant marquée par l'extension. Dans les zones de tissu méristématique néoformé non influencées par la production des primordiums radicaux, on constate que quelques cellules commencent à se différencier en xylème, d'autres en cellules qui vont continuer les rayons médullaires (Fig. 14).

Dans la zone corticale, l'évolution morphologique induite par le traitement se poursuit. Le phloème est de plus en plus difficile à localiser soit à cause de la poussée centrifuge du tissu néoformé d'origine cambiale soit du fait des entailles qui ont été faites lors de la section au microtome.

Après 12 jours :

Entre le 10ème et le 12ème jour on note une nette évolution de l'ontogenèse radicale. Le 12ème jour, les primordiums se sont considérablement développés et allongés (Fig. 15), s'insinuant dans la zone corticale et autre pour atteindre la surface de la bouture. On observe dans ceux-ci une complète organisation. On distingue une zone apicale constituée par les méristèmes apicaux de la racine. Dans la zone située sous la zone apicale, les cellules du primordium présentent des degrés croissants de gonflement en fonction de l'éloignement de l'apex.

La croissance détermine la perte de la faculté de division ultérieure mais détermine la différenciation - donc la formation - d'une racine en train de développer ces fonctions fondamentales (Haissig, 1974).

Dans diverses observations, toujours au 12ème jour, on a constaté que l'évolution radicale continue jusqu'à l'apparition d'une zone à structure primaire dans la partie de la racine la plus proche du xylème de la bouture (Fig. 16).

Après 14 jours :

Les nouvelles racines sont sorties des boutures en passant à travers le phelloderme, le phellogène, et le phloème vraisemblablement aidées par la croissance corticale (Fabri et coll., op. cit. ; Ciampi, Gellini, 1959). En deux jours, les racines commencent à émerger et certaines atteignent un centimètre (Fig. 9). En observant les coupes au microscope, on remarque l'apparition de structures spécialisées (comme, par exemple, les éléments conducteurs du phloème et du xylème). On peut aussi localiser des tissus qui, comme l'épiderme et le parenchyme cortical, effectuent leur différenciation. Nous ne sommes pas cependant parvenus à obtenir des coupes de la partie basale de la bouture où se trouve, en largeur, une racine entière néoformée, et aucune photo des différents stades de la différenciation jusqu'au xylème n'a pu être prise.

(1) D'après Haissig, le "primordium radical" est un amas de cellules au premier stade de la différenciation des racines adventives, alors que les "cellules initiales" constituent un nombre variable de cellules avec une activité mitotique intense, qui donnent naissance aux cellules du primordium. (Haissig, 1974).

Un dessin schématique représentant le début de la structure primaire des racines néoformées des boutures 14 jours après le traitement a été réalisé à partir des coupes sériées (Fig. 17).

Rhizogenèse chez *Morus alba* L., var. *florio*

Chez la variété *florio*, la rhizogenèse intervient de la même manière que chez la variété *morettiana*.

Utilisant les mêmes méthodes décrites précédemment, nous n'avons pas trouvé de différences substantielles du point de vue histologique. L'étude des coupes des boutures de *florio* montre une première différence avec la variété *morettiana* 14 jours après le traitement. On constate un développement plus contenu des primordiums ; on peut en déduire qu'au cours des deux derniers jours l'évolution radicale de *florio* est moins rapide que chez la variété *morettiana*.

Ces observations, qui peuvent être utiles pour certaines recherches, n'entrent pas dans le cadre de cette étude dont le but est la recherche du territoire cellulaire où se développent les racines adventives et non la cinétique de leur développement.

CONCLUSION

La production induite de racines adventives modifie les activités histogéniques normales des boutures. Les racines sont produites par des tissus qui normalement ne possèdent pas cette capacité, mais qui sont formés de cellules différenciées et intégrées dans un ensemble organisé et coordonné propre au développement des processus vitaux spécifiques. La première étape de la rhizogenèse induite consiste donc à différencier les cellules de la bouture destinées à la formation des racines primaires.

Cette déviation des fonctions normales donne lieu, au cours des différents jours de traitement, à des changements progressifs spectaculaires de l'histologie de la partie basale de la bouture. On obtient donc la modification de certains tissus et l'apparition localisée de nouveaux tissus. Jusqu'au 9ème jour, on peut considérer ces derniers comme des "tumeurs" ayant une genèse envahissante et une absence d'organisation. Au bout de 10 jours, quelques-unes de ces cellules s'organisent en primordiums radicaux et ainsi l'absence d'organisation primitive dans les tissus nouvellement formés correspond au stade initial de leur devenir dans l'ontogenèse des racines adventives induite par l'AIB et la température.

Les agents rhizostimulants entraînent une modification de la topographie histologique de la bouture, faisant apparaître deux processus fondamentaux chez les cellules : la croissance et la multiplication.

La croissance, c'est-à-dire l'augmentation des dimensions cellulaires, concerne les cellules du parenchyme cortical et celles provenant de la croissance du phellogène. D'une part, l'augmentation du volume des tissus corticaux exerce des pressions directes vers l'extérieur sur le liège qui vont causer de nombreuses cassures ; d'autre part, l'augmentation des dimensions cellulaires entraîne une diminution de la cohésion entre les cellules, et l'élargissement des espaces intercellulaires provoquant le décollement entre les cellules, nécessaire au développement des primordiums.

La reprise de l'activité mitotique du phellogène donne naissance à quelques rangées de cellules qui subissent cette croissance, mais perdent ultérieurement leur capacité de division.

Dans le cambium, on constate néanmoins que certaines cellules qui restent toujours de petite taille observées au cours des différents jours, conservent leur capacité de division : nous obtenons alors la formation d'un nouveau type de tissu avec des caractères méristématiques (multiplication).

Un tissu homogène se forme initialement lorsque les divisions cellulaires se font sans ordre et dans le sens des mitoses défini, constitué par des cellules morphologiquement identiques, de mêmes dimensions cellulaires, cloisons et coloration. Neuf à dix jours après le début du traitement, l'activité méristématique de certaines de ces cellules se polarise, grâce à une orientation des mitoses entraînant toujours la formation d'une structure méristématique, mais organisée : le primordium radical. Autrement dit, d'après cette étude, la prolifération cambiale donne une production de cellules identiques, certaines d'entre elles selon leur position par rapport aux autres, ayant un rôle bien défini : la production de l'apex radical avec ses histogénèses. Les cellules provenant des histogénèses



Fig. 17 : Schéma de la coupe transversale de *Morus alba* L. var. *morettiana*, 14 jours après le traitement.

On remarque la croissance corticale à l'extérieur et la prolifération cambiale à l'intérieur.

Fig. 17 : Transversal section drawing of *Morus alba* L., *morettiana* variety 14 days after the treatment.

One notices the cortical growth on the outside and cambium proliferation on the inside.

pouraient l'activité de multiplication induite, jusqu'à la distension, ce qui provoque l'allongement de la racine nouvellement formée ; entre temps, l'apex radical poussé vers l'extérieur après avoir perforé les tissus qui l'entourent arrive à la surface de la bouture.

Les observations effectuées sur tous les échantillons analysés nous permettent d'affirmer que les cellules cambiales sont responsables du développement de la rhizogenèse.

REFERENCES

- BAKER J.R. (1941), A fluid for softening tissue embedding in paraffin wax. *J. Roy. Microscop. Soc.*, 61, 75-78.
- BELL J. K., Mc CULLY M. E. (1970), A histological study of lateral root initiation and development in *Zea Mais*. *Protoplasma*, 70, 179-205.
- BOUILLENNE R., WENT F. (1933), Recherches expérimentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures. *Ann. Jard. Bot., Buitenzorg*, 43, 25-199.
- BUVAT R. (1944), Recherches sur la dédifférenciation des cellules végétales, I. Plantes entières et boutures. *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. Veg.*, 5, 1-130.
- CAMERON R. J., THOMSON G. V. (1969), The vegetative propagation of *Pinus Radiata*: root initiation in cutting. *Bot. Gaz.*, 130, 242-251.
- CIAMPI C., GELLINI R. (1959), Studio anatomico sui rapporti tra struttura e capacità di radicazione in talee di olivo. *Nuovo Gior. Bot. Ital.*, 65, 47-50.
- CORMAK R. G. H., LAMAY P. L. (1966), A further study of callus tissue development on stem cutting of balsam poplar. *Canad. J. Bot.*, 44, 47-50.
- FABBRI A., LAMBARDI M., SANI P. (1985), Anatomia della rizogenesi avventizia in talee di "140 Ruggeri" (*V. Berlandieri* × *V. Rupestris*). *Riv. Vitic. Enol. Conegliano.*, 10, 508-518.
- FAVRE J. M. (1973), Effets corrélatifs de facteurs internes et externes sur la rhizogenèse d'un clone de vigne (*V. riparia* × *V. rupestris*) cultivé in vitro. *Rev. Gen. Bot.*, 76, 455-467.
- FAVRE J.M. (1974), Divers aspects du rôle du bourgeon et des noeuds sur la rhizogenèse de la vigne cultivée in vitro. *Rev. Cytol. Biol. Veg.*, 37, 393-406.
- GAUTHERET R. J. (1959), La culture des tissus végétaux : techniques et réalisations. Masson Editeur, Paris.
- GREGUSS P. (1959), *Holzanatomie der europäischen Laubholzer und Straucher*. Akademiai Kiado, Budapest.
- HAISSIG B. E. (1974), Origin of adventitious roots. *N. Z. Journal for Sci.*, 4, 299-310.
- JENSEN W. A. (1962), *Botanical histochemistry*. Freeman, S. Francisco.
- Mc MANUS J.F. (1964), *Staining methods*. Aca. Press., New York.
- MEDARD R., FAVRE J. M. (1969), Ontogénie des racines adventives chez la vigne cultivée in vitro. *Rev. Gen. Bot.*, 76, 455-467.
- MENECHINI A., CAPPELLOZZA L., MIOTTO F. (1986), Costituzione di gelseti specializzati utilizzando gelsi riprodotti per talea. *L'informatore agrario*, 40, 41-43.
- NAGPAL R., SEHGAL R. N. (1985), Propagation of some agro-forestry species by air-layering. *Indian J. For.*, 8, 161-165.
- REALI G., MENECHINI A., TREVISAN M. (1985), *Bachicoltura moderna*. Ed. Agricole, Bologna. Italy.
- RUGE U. (1971), The influence of various inhibitors on the formation of adventitious roots. *Z. F. Pflanzenphysiol.*, 65, 45-63.
- SYED MOHD, AHMAD MATTHEW (1979), Effect of IAA and GA on dormant lenticels of mulberry. *Phytomorphology*, 29, 7-13.
- TONZIG S. (1976), *Elementi di Botanica*, II. Ambrosiana, Milano.

INDUCED RHIZOGENESIS IN *MORUS ALBA* L.

L. CAPPELLOZZA*, P. GIULINI** & R. MORELLATO**

* Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura di Padova, Via delli Colli 28, 35100 Padova, Italy.

** Dipartimento di Biologia, Sezione Geobotanica, Università degli studi di Padova, Italy.

From rhizogenesis-stimulant (indol-butyric acid : IBC) and basal-reheating treated cuttings of florio and morettiana varieties of Morus alba L., three 2 cm long specimens were taken from the basal end, at regular 2, 5, 7, 9, 10, 12 and 14 day intervals. These samples were fixed in formacetic acid (FAA). Untreated cutting samples were also collected and kept as controls.

Sections were carried out on every sample. Cryotome was used on the samples from untreated cuttings whereas for treated cuttings it was necessary to use JUNG wood microtome, after dehydration in alcohol and inclusion in paraffin.

For general staining, light green safranin was used, whereas insoluble carbohydrate histochemical staining was carried out by means of periodic acid - Schiff's reagent. The glass plates were set with Canada balsam.

By observing the transversal and tangential sections of treated and untreated specimens, the latter being used as a reference, it was noted that rhizo-stimulating agents lead to a change in the cutting histological topography by provoking the multiplication of cambium and phelloderm and the growth of parenchymatous cells.

After 9 days' treatment, the cambium mitotic activity gave rise to a homogeneous tissue, made up of cells that had kept their ability to divide, but that were still identical morphologically, with the same size and similar walls and staining.

By the 9th and 10th days after the treatment some of these cells organized and gave rise to the first roots.

Since in all the samples which were treated and examined the same histochemical evolution was observed it can be asserted that cambium cells originate the first roots. No substantial difference was noted between the two mulberry varieties during the study.

INTRODUCTION

A few years ago mulberry multiplication by ligneous cuttings was perfected at the ISZA (Padua Bacology-specialized Section) (A. Meneghini *et al.*, 1986). The present study was carried out in order to show the histological aspect of rhizogenesis in *Morus alba* L. cuttings.

The major two aims of this study are :

- to determine the tissues where rhizogenic meristems spring and differentiate.
- to describe the morphological modifications of rhizogenesis-related tissues.

To this end, two wild *Morus alba* varieties were chosen, viz., *florio* and *morietiana*, the leaves of which are commonly used for the feeding of *Bombyx mori* L.

It must be noted that the results obtained can serve as an indication for other varieties of this species but they cannot be generalized, especially if rhizogenesis-stimulant treatments other than those mentioned in this study are made use of.

This investigation therefore is useful, either to improve the histological knowledge of various *Morus* rhizogenic tissues, or because it gives basic instructions for possible organs fragments micropropagation tests.

MATERIALS AND METHODS

Preparation, treatment and forcing of cuttings

The roughly 20 cm long cuttings came from wound-free, straight and lignified branches the diameter of which ranged from 0.4 to 1.2 cm. The branches, collected early in February from well-fed mother plants which showed no pathological form, were cut clean perpendicularly to the growth axis and under a node (Meneghini *et al.*, 1986).

The cuttings thereby obtained were gathered into clusters (Fig. 1) keeping the polarity of buds. The clusters were immersed by a height of less than 2 cm for 5-6 seconds in an alcohol solution containing 2,000 ppm gamma indol-3-butyric acid (IBA), prescribed as the most effective concentration as per the experiment results.

The branches were then placed on thermoregulated tables, the basal area treated resting directly on the tray heated at 25°C, which seems to be the temperature which adapts best to rhizogenic stimulation.

Empty spaces between the cutting clusters were filled with an 8-10 cm granular (agriperlite) layer, mixed either with heat insulator or with an absorbent substrate and maintained continuously slightly damp so as to prevent the cuttings from dehydrating. Room temperature did not exceed 8°C, in order to prevent bud vegetative resumption, the activity of which tends to inhibit cutting rhizogenic ability.

Collection and preparation of samples

Ten IBA-treated and basal re-heated branches were taken from each of the two varieties at regular intervals on the 2nd, 5th, 7th, 9th, 10th, 12th and 14th day after the beginning of the rhizogenesis-stimulant treatment.

About 2 cm long samples were pruned from the basal end of the cuttings so as to carry out histo-anatomic observations with a microscope. The material obtained was fixed in formacetic acid (FAA) for 24 hours (Jensen, 1962).

After 24 hours, the samples were removed from the fixer and placed for two days in a water bowl. The samples were maintained in hermetically closed containers, filled with water and thymol so as to prevent fungus development.

Besides the samples taken from the treated cuttings, untreated cutting samples were collected to underscore the morphological modifications linked to adventitious root production in cuttings submitted to rhizogenic stimulation.

Slicing of samples

The samples which were neither treated nor fixed were sliced by means of a cryotome which, when it is used at a temperature ranging from 16°C to 25°C, enables very good (15 micrometer thick) sections to be obtained without having to resort to common microtomy which would have required the inclusion of the material in paraffin.

In the samples taken from the cuttings submitted to rhizogenic stimulation and fixed thereby, the best slices were obtained with JUNG wood microtome, as the section flaws are substantially reduced (fracture lines and tissue weathering) in relation to the use of cryotome and that of paraffin microtomy which would not have permitted a precise histological observation of the tissues to be done.

Before making the slices the material was dehydrated in ethyl and butylic alcohol and included in a paraffin product (melting temperature, 60°C). All the slices obtained were laid, before being dipped into 40°C water, which furthers larger a distension, on glass plates coated with a thin glyceralbumin film.

For general staining, light green safranin was used, whereas periodic acid -Shiff's reagent- was used for insoluble carbohydrate histochemical staining. The plates were set with Canada balsam.

RESULTS AND DISCUSSION

The morphology of the stem at time 0 -i.e., at the end of wintering and without any treatment- was used as a reference mark to assess stem tissue evolution during the rooting of treated cuttings.

After many observations of cuttings from either variety, it was noticed that there existed no difference in the anatomic structure, only one model was therefore adopted for both varieties.

On the transversal and tangential slices of *morettiana* stems, the following facts could be established.

Pith :

In the middle of the stem is located the medullary region which is made up of parenchymatous cells with thin, unlignified walls. The cells are isodiametrical with wide cellular spaces (Fig. 2).

Xylem :

The xylem starts with the xylematous parts of the primary bundles, of apical origin, surrounded by a layer of cells with thick and lignified walls (Fig. 2). The conducting elements of primary origin, tracheidal type and with reduced lumen in relation to secondary wood vessels, show helical thickenings.

The secondary xylem is a diffuse porosity wood with few bulky spring vessels, the lumen diameter of which ranges between 50 and 150 μm (Fig. 4). Smaller and more numerous vessels can only be observed in the vicinity of late wood (Greguss, 1959). Primary xylematous channels solely possess helical thickenings and are smaller in diameter, the secondary ones show thickenings all over the side surface of each element, only interspersed with many zones where the wall is thinner, these are riddled vessels. The transversal walls of each vascular element reabsorbed.

As Greguss (op. cit.) also noted the axial parenchyma makes up strips inside the xylem. Of course, a mechanic tissue consisting of many thick-walled, lignified fibres is also found (Fig. 4). Parenchymatous rays are numerous and made up of various layings (10-30 elements) consisting of two or, more rarely, of one or three series of radially oblong cells.

Cambium :

During the sampling cambium is made up of a regular sequence of meristematic cells and, in places, of certain cells from which they derive not yet differentiated, apparently at rest (Fig. 5).

Phloem :

The phloem ring is divided into rectangular sectors in the parenchymatous rays and consists of riddled tubes, mate cells, parenchymatous cells and free fibres which are large in diameter and length, the latter are placed in a disordered manner and tend to be more numerous towards the outside (Fig. 5).

Cortical area :

The cortical area starts behind the phloem with three concentric layers of medium diameter and parenchymatous type cells which are laid out in a very orderly manner and tangentially oblong. These contribute together to the sealing of parenchymatous rays and clearly delimit the rectangular sectors of the phloem.

In the following cortical area the mechanic tissue is preponderant and consists of bulky fibres with thick, lignified walls which practically obstruct cell light (Fig. 6). On the transversal sections, they appear crushed according to a direction whereas on the tangential sections they are axially very oblong.

Fibres are not isolated but clustered in 10 to 20 unit groups, each group being surrounded by cortical parenchymatous cells which do not line up in an orderly manner (Fig. 6).

Outside this heterogeneous area, the cortical parenchyma consists of some ten concentric layers of parenchymatous cells which are rounded or slightly compressed radially, well-lined, smaller than the parenchymatous cells surrounding cortical fibres. These cells make up a compact tissue with small-size intercellular spaces, in which is found a discontinuous layer of sclerenchymatous tissue which, as observed on the transversal sections, is located towards the median part of this area of the cortex (Fig. 6-7).

Outside the last cortical parenchymatous cell layer is located the phellogenetic tissue which, owing to its diploic activity, produces the phelloderm towards the inside and the cork towards the outside. The latter is made up of three layers of concentric cells of radially compressed suber.

Epiderm :

Outside the cork layer small epiderm fragments which have lost their function can still be perceived. At this stage, it has come to a dead tissue with many wide desquamating tears (Fig. 7).

Rhizogenesis anatomy in *Morus alba L. var. morettiana*

Tissue activities induced by root treatment, i.e., cortical parenchyma growth, new merismatic tissue development and phellogen growth entail structure modifications which gradually spread along the cuttings from the basal area up to 15-20 mm.

Cortical tissue growth entails callous formations (Cormacx and Lemay, 1966), this development causing external tissues (epiderm and cork oak) to break, producing brown-yellowish protuberances which clearly show after 12 to 14 days' treatment (Fig. 8).

New roots appear on the cutting level with these callous formations. On the cuttings on which root ontogeny is more developed the first root "buds" appear after 12 days instead of 14, the buds generally showing newly formed adventitious turgescer root wisps (Fig. 9).

The histological aspect of treated samples is modified on account of rhizogenesis evolution.

After 2 days :

The cuttings collected two days after the treatment did not show histological modifications yet, but it is supposed that this phase initiates cellular metabolic modifications with dilation of the nuclei and nucleoli and increase in the biosynthesis of the macromolecules that precede the beginning of cell divisions (Buvat, 1944). The author adds that these metabolism variations do not concern the cells which have successively contributed to the first root development.

After 5 days :

On all the sections of the cuttings taken five days after the rhizogenesis-stimulating treatment, the onset of the IBA and temperature-induced activity located in the cambium is obvious. Interaction of both these elements determines the production of several derived cell layers (Fig. 10), this proliferation does not concern the whole cambium and is more or less limited to some of its parts.

After 7 days :

After seven days one notes from the section samples that cambium multiplication concerns a larger amount of cells, each of them producing, after successive divisions, some fifteen small new cells which are rounded and have a central nucleus. These are meristematic cells which are to form a new homogeneous tissue which is to insert between the xylem and phloem (Fig. 11). Root treatments induce meristematic activity resumption even in the phellogen, together with the production of new cells which are going to provoke a larger growth. This growth also concerns cortical parenchyma cells and, in particular, the sclerenchymatous area external cells.

These alterations show especially in the region which is close to the cutting bases, that is to say the region which was submitted to temperature and IBA action. As noted by Médard and Fabre (1969), these processes result from the forming of a cicatrization tissue. Bark modifications are not diffuse and are solely located in a few areas. Besides, proliferation of the cells situated under the lenticels is

noted, which would entail a gradual breaking of the suberified layers which obstruct lenticels. As Syed and Ahmad (1979) have already pointed out, the growth of these cells is caused by root hormones.

After 9 days :

After this period of time the mass of the lenticel-linked newly formed cells reaches a size big enough to break the suberified layers which obstruct the lenticels (Fig. 2).

In the areas where the phellogen was activated, the production of new cells continues, laid in regular radial sequences which start suddenly to increase in size, especially radially. The increase of the amount of cortical parenchyma cells produces spherical cells, because they do not migrate according to a preferential direction but according to directions diverging from the primary activation area.

These new "spongy" cortical formations are not directly related to rhizogenesis, but are contemporary and independent. In fact, the primary roots come from cells which are produced in other areas. According to Fabri *et al.* (1985), these formations seem to be able to facilitate the passage first from the primary root then from the root apex to the outside. They may also make up a protection area from the apex at the earliest stage of its formation before it even starts growing outside. On the one hand the increase in the cortical tissue volume exerts direct pressures towards the outside on the cork, which thus produce many breaks. On the other hand the cell dimension growth entails a decrease in the cohesiveness of cells and an increase in the intercellular spaces and produces primordium development.

The cortical area is also subjected to a power determined by the thickness increase of the newly formed meristematic tissue derived from the cambium which grows towards the outside against the bark and phloem.

About one centimeter from the cutting bases, the phloem no longer has a continuous structure and shows radial breaks due to the development of the cambium-derived tissue which, despite the breaks, carries its multiplicative growth on towards the outside and heads for the cortical parenchyma (Fig. 12). Microscopic analysis of the sections of the cuttings which have been subjected to treatment for 9 days does not enable primary roots (1), nor initial roots (1) i.e. morphologically organized cellular sets, to be located.

After 10 days :

After ten days, on some samples, the occurrence of primordia at an early stage of development can be observed for the first time. These are made up of a new mass of meristematic cells (Fig. 3), in which divisions seem to be more numerous than in the adjoining cells. The primordial meristem (primordium) is globulo-nodular in shape and develops mostly radially, stretching over the surface of the cutting.

In accordance with Bell and McCully's observations (1970) on the primordium and initial cells, mitoses do not go one way only, anticlinal, periclinal and oblique divisions are noted. In the primordia the cell differentiation process has not started yet, the first stage being the stretching stage. In the newly formed meristematic tissue areas which are not influenced by root primordium production, a few cells are noted to differentiate into the xylem, others into cells which will continue the pith rays (Fig. 14).

(1) According to Haissig the "root primordium" is a cell cluster at the first stage of adventitious root differentiation, whereas "initial cells" make up a varying number of cells with an intensive mitotic activity which initiate primordium cells (Haissig, 1974).

In the cortical area, the treatment-induced morphological evolution carries on. The phloem gets more and more difficult to locate, either because of the centrifugal thrust of the cambium originating newly formed tissue, or on account of the cuts which were done during the microtomy cutting.

After 12 days :

Between the 10th and the 12th day a marked evolution of the root ontogenesis is noted. On the 12th day primordia have considerably developed and stretched (Fig. 15), penetrating the cortical area to reach the surface of the cutting. These show thorough organization. One notes an apical area made up of the root apical meristems. In the area located under the apical area the primordium cells show increasing degrees of swelling according to the distance from the apex.

Growth determines the following division ability loss as well as the differentiation, that is to say the formation of a root which is in the process of developing these basic functions (Haissig, 1974).

In various observations, still on the 12th day, it was noted that root evolution carried on until a primary structure area appeared in the part of the root which is the closest to the xylem of the cutting (Fig. 16).

After 14 days :

New roots have grown out of the cuttings by way of the phelloderm, the phellogen and the phloem very likely helped by the cortical growth (Fabri *et al.*, op. cit. ; Ciampi, Gellini, 1959). After two days the roots start to emerge and some of them reach one centimeter (Fig. 9). Observing the section through a microscope one notes the occurrence of specialized structures (as, for instance, the phloem and xylem conductive elements). One can also locate tissues which, like epiderm and cortical parenchyma, are carrying out their differentiation. However, we have not managed to obtain sections of the basal part of the cutting where a full newly formed root is located widthwise. No picture of the various differentiation stages until the xylem could be taken.

A schematic drawing representing the onset of the primary structure of the newly formed roots of the cuttings 14 days after the treatment was carried out after the serial sections (Fig. 7 and 17).

Rhizogenesis in *Morus alba L.*, var. *Florio*

In the *florio* variety rhizogenesis takes place in the same way as in the *morettiana* variety.

With the same methods as described above, we found no substantial difference from the histological point of view. The study of *florio* cutting sections shows one first difference with the *morettiana* variety 14 days after the treatment. A more restrained primordium development is noted, it can be deduced that, during the last two days, *florio* root evolution is slower than in the *morettiana* variety.

These observations, which can prove useful for a certain type of research, do not belong to the scope of our study which aims at looking into the cell territory in which adventitious roots develop and not their development kinetics.

CONCLUSION

Adventitious root induced production alters the normal histogenic activities of the cuttings. Roots are produced by tissues which do not normally possess this ability and which are made up of cells differentiated and integrated in an organized and co-ordinated set peculiar to specific life process development. Induced rhizogenesis first stage therefore lies in differentiating the cutting cells intended for primary root formation.

This deflection from normal functions gives rise to remarkable gradual changes in the cutting basal part histology during the various days of the treatment. Alteration of some tissue and local appearance of new tissues can then be obtained. Until the 9th day the latter can be considered as "tumours" having an invading genesis and lacking organization. After 10 days, some of these cells organize into root primordia, the absence of primitive organization in the newly formed tissues corresponds to the initial stage of their development during the adventitious root ontogenesis induced by IBA and temperature.

Rhizostimulating agents imply a histological topography modification of the cutting, thus revealing two basic processes in the cells : growth and multiplication.

Growth —i.e., an increase in the cellular dimensions— concerns the cells in the cortical parenchyma and that come from the phellogen growth. On the one hand, the increase in the cortical tissue volume exerts direct pressures towards the outside on the cork, which are to cause many breaks ; on the other hand, the increase in the cellular dimensions involves a decrease in the cell cohesiveness and a widening of intercellular spaces causing a detachment of the cells which is necessary to primordium development.

Phellogen mitotic activity resumption gives rise to a few rows of cells which undergo this growth but later lose their division ability.

In the cambium, it is nevertheless noted that some cells, which remain smaller in size, as observed on the various days of the experiment, keep their division ability. A new type of tissue, with merismatic characters (multiplication) is then noted to appear.

A homogeneous tissue initially forms when cellular divisions occur without order and in the defined mitosis way. It consists of morphologically similar cells which are the same cellular size, have the same walls and staining characteristics. Nine to ten days after the beginning of the treatment, the meristematic activity of some of these cells is polarized, due to the orientation of the mitoses always involving a formation of the same meristematic yet organized structure, the root primordium. In other words, according to this study, cambium proliferation gives rise to the production of similar cells, some of which, depending on their location in relation to the others, having a well-defined role : the production of root apex with its histogeneses. Histogenesis-originated cells continue the induced multiplication activity, until distension, which provokes the stretching of the newly formed root. Meanwhile, the root apex thrust towards the outside after boring through the tissues that surround it reaches the surface of the cutting.

The observations made on all the analysed samples enable us to assert that cambium cells are responsible for rhizogenesis development.

EPIDEMIOLOGY OF *CERCOSPORA* LEAF SPOT DISEASE OF MULBERRY. IV. PROCESS OF PENETRATION

J. SUKUMAR* & A. RAMALINGAM

Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany, University of Mysore, Mysore 570006, India.

Penetration of mulberry leaves by Cercospora moricola was studied on detached leaves. The germ tubes of the pathogen entered the leaves only through stomata. Appressorial formation was absent. Production of secondary conidia was noticed on young leaves. The germ tubes entered the leaves through both open and closed stomata. The per cent conidial germination, number of germ tubes, length of germ tube and the frequency of penetration were higher on young leaves and gradually decreased with increased leaf age.

Keywords : *Cercospora*, leaf spot, penetration, mulberry.

INTRODUCTION

Fungal pathogens enter the leaves through natural openings, wounds or directly through intact surfaces. *Cercospora moricola* Cooke, the causal agent of leaf spot disease of mulberry (*Morus indica*) infects the leaves only when the conidia are deposited on their lower surface (Sukumar and Ramalingam, 1981a). The top six leaves were found to be susceptible to infection (Sukumar and Ramalingam, 1987). Leaf leachates from older leaves were inhibitory to the conidial germination of the pathogen while those from young leaves were not inhibitory (Sukumar, 1988). Much information is available on the penetration of sugar beet leaves by *Cercospora beticola* (Rathaiah, 1976 ; Solel and Minz, 1971) and coffee leaves by *Cercospora coffeicola* (Siddiqui, 1970). Such studies are lacking on mulberry. The present study reports the mode of penetration by *Cercospora moricola* on mulberry leaves.

MATERIALS AND METHODS

The studies were conducted on detached leaves of the mulberry variety M5 of *Morus indica* L. The leaves on a branch were numbered by counting the topmost unfurling leaf as 1 and the rest of the leaves below as 2, 3, 4 and so on. Leaves numbered 1-8 were spray inoculated on both sides with conidial suspension (10^8 conidia/ml) prepared from a 10-day-old culture of the pathogen grown on potato dextrose agar medium. Inoculated leaves were incubated under alternating day light and darkness in Petridishes whose bases were lined with wet blotters. Leaf discs 2.1 cm in diameter were removed from each leaf at 24 hour intervals, boiled in 1:1 alcoholic lactophenol for 3-4 minutes and cleared in a saturated solution of chloralhydrate for 24 hours. The cleared leaf discs were stained with cotton blue in lactophenol. Observations were made on six parameters viz., 1) percentage germination

* Present address : Plant protection section, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560062, India.

of conidia, 2) number of germ tubes, 3) number of germ tube branches 4) percentage penetration, 5) formation of secondary conidia and 6) length of germ tubes. Triplicates were maintained for each treatment.

RESULTS

Stomata were present only on the lower surface of the leaves. The conidia germinated equally well on both surfaces of the leaves. The germ tubes entered the leaves only through stomata and direct penetration was absent. The germ tubes entered the stomata directly (Fig. 1a) or through the production of a branch (Fig. 1b, d). Appressoria were not produced on the leaves. The germ tubes produced from more than one conidia were seen entering the same stoma (Fig. 1c). Penetration in some cases was immediate as soon as the germ tube emerged from the conidium (Fig. 1e). The germ tubes entered both open and closed stomata.

The percentage conidial germination, number of germ tubes, number of germ tube branches, percentage penetration and length of germ tube were higher on the first four leaves and gradually decreased on the rest of the leaves with increased leaf age (Table I). Maximum counts were recorded after 72 hours of incubation where formation of secondary conidia (Fig. 1f) was also observed on leaves numbered 2, 3, 4 and 5.

DISCUSSION

Germ tubes of *C. moricola* conidia entered the leaves only through stomata. Direct penetration was absent. In mulberry the stomata are distributed only on the lower surface of the leaves (hypostomatous). Hence the successful infection of leaves by *C. moricola* is possible only when the inoculum is deposited on the lower surface of leaves (Sukumar and Ramalingam, 1981). Similar mode of stomatal entry has been reported for *C. coffeicola* on coffee (Siddiqui, 1970) and *C. beticola* on sugar beet (Pool and McKay, 1916 ; Radhaiah, 1976). Several factors have been reported to govern the entry of stomata by the germ tubes of *C. beticola*. Open stomata were stated to exert some attractive stimulus to the germ tubes (Pool and McKay, 1916) while Canova (1959) suggested a hydrotropic response. The conidia of *C. moricola* are splash borne (Sukumar and Ramalingam, 1981b). They are carried to the undersurfaces of leaves by rain splash, ensuring the natural portal for entry and assured free moisture for germination and penetration. Similar mechanism of conidial deposition near sites of entry has been reported for *Hemileia vastatrix* on coffee, where the air deposited conidia from the upper surfaces of leaves are carried to the vicinity of stomata situated only on the lower surfaces of leaves by rain splash (Marshall Ward, 1882 ; Rayner, 1961).

Leachates from matured mulberry leaves have been shown to inhibit the conidial germination and germ tube length of *C. moricola* (Sukumar, 1987). Mulberry leaves have also been shown to harbour a variety of micro-organisms (Sukumar, 1983) in increasing numbers with increased age of leaves. Culture filtrates of many of these microbes were found to inhibit *C. moricola* conidial germination and leaf spot development (Sukumar & Ramalingam, 1987). In the present study, the reduction in the percentage of conidial germination, germ tube length and penetration on matured leaves is maybe due to the antifungal compounds produced by the leaves and the residing saprophytic microflora on leaves.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the C.S.I.R., New Delhi, for financial assistance and the University of Mysore for facilities.

Table I. Germination and post-germination events of *Cercospora moricola* sprayed on mulberry leaves of different ages.

Tableau I. Phénomènes germinatifs et post-germinatifs chez *Cercospora moricola* aspergé sur des feuilles de mûriers de différents âges.

Hours of incubation / Heures d'incubation	Leaf no. from the top / Numéro de la feuille à partir du haut							
	1	2	3	4	5	6	7	8
24 hours / 24 heures								
% germination / % de germination	96	98	96	94	89	74	77	75
No. of germ tubes / Nb. de tubes germinatifs	139	121	126	118	100	88	83	79
No. of branches / Nb. de ramifications	3	2	4	2	-	-	-	-
% penetration / % de pénétration	29	22	31	23	15	12	5	3
No. of secondary conidia / Nb. de conidies secondaires	-	-	-	-	-	-	-	-
Length of germ tubes (mm) / Longueur des tubes germinatifs (mm)	48	51	43	39	33	35	27	24
48 hours / 48 heures								
% germination / % de germination	94	91	98	90	93	79	87	70
No. of germ tubes / Nb. de tubes germinatifs	132	127	132	112	107	97	92	81
No. of branches / Nb. de ramifications	12	17	23	25	13	17	3	8
% penetration / % de pénétration	53	43	51	39	27	19	10	5
No. of secondary conidia / Nb. de conidies secondaires	-	-	-	-	-	-	-	-
Length of germ tubes (mm) / Longueur des tubes germinatifs (mm)	Data not recorded / Données non relevées							
72 hours / 72 heures								
% germination / % de germination	98	94	96	90	93	75	77	73
No. of germ tubes / Nb. de tubes germinatifs	137	135	127	131	126	93	87	85
No. of branches / Nb. de ramifications	23	31	42	23	19	25	13	10
% penetration / % de pénétration	77	75	63	53	41	25	13	8
No. of secondary conidia / Nb. de conidies secondaires	-	3	2	4	1	-	-	-
Length of germ tubes (mm) / Longueur des tubes germinatifs (mm)	Data not recorded / Données non relevées							

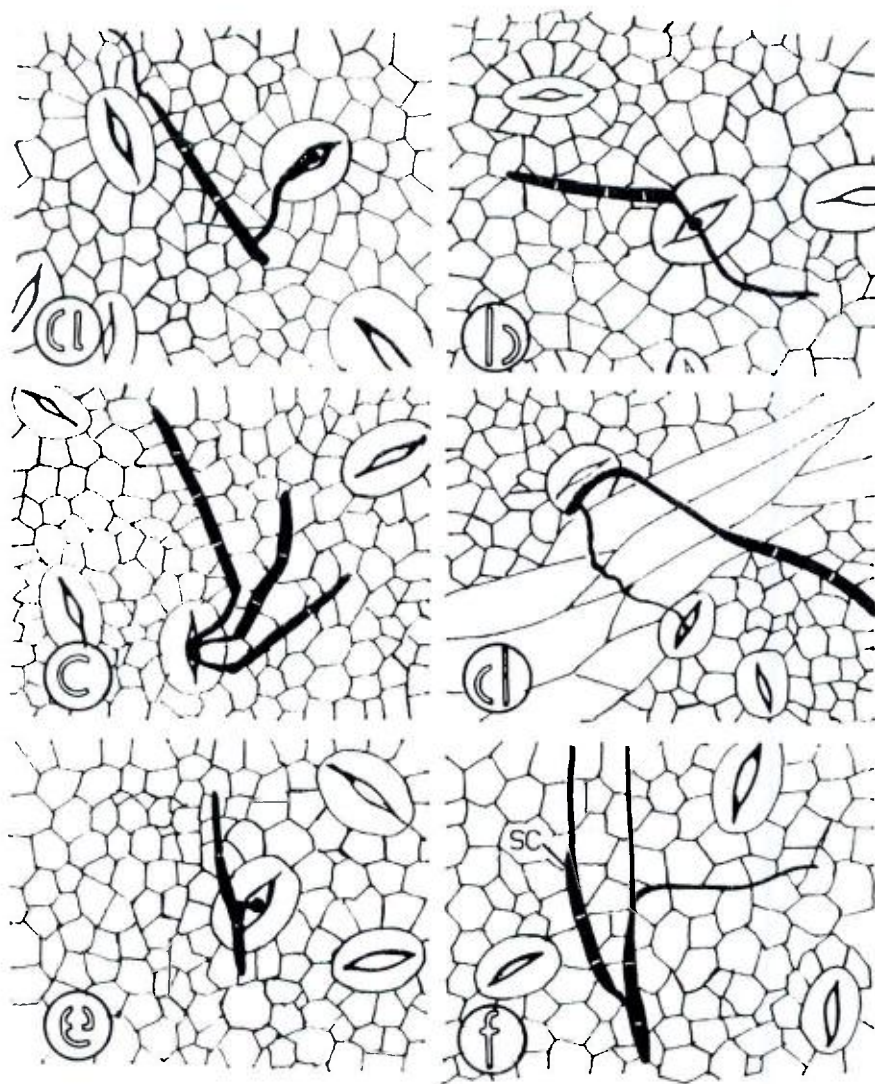


Fig. 1 : Penetration by *Cercospora moricola* conidia on mulberry leaves.

a) Penetration through stoma b) Penetration by a germ tube branch produced on a stoma c) Simultaneous penetration by three germ tubes d) Penetration by a germ tube branch e) Immediate penetration f) Secondary conidium formation.

Fig. 1 : Pénétration des conidies de *Cercospora moricola* dans les feuilles de mûriers.

a) Pénétration par les stomates b) Pénétration par une ramification du tube germinatif produit sur un stomate c) Pénétration simultanée par trois tubes germinatifs d) Pénétration par une ramification du tube germinatif e) Pénétration immédiate d) Formation secondaire d'une conidie.

REFERENCES

- CANOVA A. (1959), Ricerche sulla biologia e iepidemiologia della *Cercospora beticola* Sacc., Parte IV. Suscettibilita dell ospite all infezione. Annali Sperimentazione Agr., N.S. 13, 685-776.
- MARSHALL W.H. (1882), Researches on life history of *Hemileia vastatrix* the fungus of the coffee leaf disease. J. Proc. Linn. Soc. Bot., 19, 299.
- POOL V.W., McKAY M.B. (1916), Relation of stomatal movement to infection by *Cercospora beticola*. J. Agric. Res., 5, 1011-1038.
- RATHAIAH Y. (1976), Infection of sugar beet by *Cercospora beticola* in relation to stomatal condition. Phytopathology, 66, 737-740.
- RAYNER R.W. (1961), Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.). Ann. Appl. Biol., 49, 497-505.
- SIDDIQUI M.A. (1970), Incidence, development and symptoms of *Cercospora* disease of coffee in Malawi. Trans. Br. Mycol. Soc., 54, 415-421.
- SOLEL Z., MINZ G. (1971), Infection process of *Cercospora beticola* in sugar beet in relation to susceptibility. Phytopathology, 61, 463-466.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1981a), Detached leaf technique to study leaf spot and other foliar diseases of mulberry. Indian Phytopathology, 34, 100-101.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1981b), Splash dispersal in *Cercospora moricola*. Sci. Cult., 47, 173-175.
- SUKUMAR J. (1983), Studies on the phylloplane microflora of mulberry (*Morus indica* L.). Ph.D. thesis, Univ. Mysore, India, 233 pp.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1987), Epidemiology of *Cercospora* leaf spot disease of mulberry. II. Leaf age and disease susceptibility. Sericologia, 27(4), 685-688.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1987), Antagonistic effects of phylloplane microorganisms against *Cercospora moricola* Cooke. Current Science, 55, 1208-1209.
- SUKUMAR J. (1988), Inhibition of conidial germination of *Cercospora moricola* by mulberry leaf leachates. Sericologia, 28(2), 249-252.

EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE DE LA TACHE CERCOSPORA CHEZ LE MURIER. IV. PROCESSUS DE PENETRATION

J. SUKUMAR* & A. RAMALINGAM

Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany, University of Mysore, Mysore 570
006, Inde.

La pénétration des feuilles de mûrier par Cercospora moricola a été étudiée sur des feuilles détachées. Les tubes germinatifs de l'agent pathogène pénètrent les feuilles uniquement par les stomates. Il n'y a pas de formation d'appressoriums. On constate la production de conidies secondaires sur les jeunes feuilles. Les tubes germinatifs pénètrent les feuilles aussi bien par les stomates ouverts que par les stomates fermés. Le pourcentage de germination des conidies, le nombre de tubes germinatifs, la longueur d'un tube et la fréquence de pénétration sont plus élevés chez les jeunes feuilles puis diminuent progressivement chez les feuilles matures.

INTRODUCTION

Les agents pathogènes fongiques pénètrent les feuilles par leurs ouvertures naturelles : par les blessures ou directement à travers les surfaces intactes. *Cercospora moricola* Cooke, vecteur de la maladie de la tache du mûrier (*Morus indica* L.), contamine les feuilles uniquement lorsque les conidies se déposent sur la surface inférieure (Sukumar et Ramalingam, 1981a). On a découvert que les six feuilles supérieures étaient sensibles à l'infection (Sukumar et Ramalingam, 1987). Les solutions de rinçage des feuilles matures permettent d'inhiber la germination des conidies de l'agent pathogène mais pas celles des jeunes feuilles (Sukumar, 1988). Il existe une documentation importante sur la pénétration des feuilles de betterave à sucre par *Cercospora beticola* (Rathaiah, 1976 ; Solel et Minz, 1971) et des feuilles de café par *Cercospora coffeicola* (Siddiqui, 1970), mais aucune étude n'a été faite sur le mûrier. Cette étude présente le mode de pénétration par *Cercospora moricola* chez les feuilles de mûrier.

MATERIELS ET METHODES

Les expériences sont effectuées sur les feuilles détachées de la variété de mûrier M5 de *Morus indica* L. Le numérotage des feuilles d'une même branche se fait à partir de la feuille supérieure la plus jeune à laquelle on donne le numéro 1, puis aux feuilles inférieures les numéros 2, 3, 4 etc. On inocule par pulvérisation sur les feuilles numérotées de 1 à 8 la suspension de conidies (10^5 conidies/ml) préparée à partir d'une culture de 10 jours de l'agent pathogène sur milieu gélosé de dextrose de pomme de terre. Les feuilles contaminées sont mises en incubation sous alternance jour-nuit sur des boîtes de Pétri dont les fonds sont recouverts de buvards humides. Des disques de

* Adresse actuelle : Plant Protection Section, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.

feuilles d'un diamètre de 2,1 cm sont prélevés toutes les 24 heures, puis bouillis dans un mélange 1:1 de lactophénol et d'alcool pendant 3 à 4 minutes et lavés dans une solution saturée d'hydrate de chloral pendant 24 heures. Les disques lavés sont colorés avec du bleu Cotton en solution dans du lactophénol. Les observations concernent les six paramètres suivants : 1) pourcentage de germination des conidies, 2) nombre de tubes germinatifs, 3) nombre de ramifications des tubes germinatifs, 4) pourcentage de pénétration, 5) formation de conidies secondaires, 6) longueur des tubes germinatifs. Des triplicats ont été effectués pour chaque traitement.

RESULTATS

Les stomates sont présents uniquement sur la surface foliaire inférieure. Les conidies germent facilement des deux côtés de la feuille. Les tubes germinatifs pénètrent les feuilles uniquement par les stomates ; il n'y a pas de pénétration directe. Les tubes germinatifs pénètrent dans les stomates directement (Fig. 1a) ou en produisant une ramification (Fig. 1b, d). Il n'apparaît pas d'appressorium sur les feuilles. On constate que les tubes germinatifs provenant de plus d'une conidie pénètrent le même stomate (Fig. 1c). Dans certains cas, la pénétration a lieu dès que le tube germinatif émerge de la conidie (Fig. 1e). Les tubes germinatifs entrent aussi bien par les stomates ouverts que par les stomates fermés.

Le pourcentage de germination des conidies, le nombre de tubes germinatifs, le nombre de ramifications des tubes germinatifs, le pourcentage de pénétration et la longueur des tubes germinatifs sont plus élevés chez les quatre premières feuilles puis décroissent progressivement chez les feuilles inférieures qui sont plus âgées (Tableau I). Les données maximales sont recueillies après 72 heures d'incubation au moment où l'on observe la formation de conidies secondaires chez les feuilles n° 2, 3, 4 et 5.

DISCUSSION

Les tubes germinatifs des conidies de *C. moricola* pénètrent les feuilles uniquement par les stomates. Il n'y a pas de pénétration directe. Chez le mûrier, les stomates se trouvent uniquement sur la surface inférieure des feuilles (hypostomates). De ce fait, la contamination des feuilles par *C. moricola* ne peut se faire que si l'inoculum se dépose sur la surface inférieure de la feuille (Sukumar et Ramalingam, 1981). Un mode de pénétration similaire a déjà été démontré pour *C. coffeicola* sur le café (Siddiqui, 1970) et pour *C. beticola* sur la betterave à sucre (Pool et McKay, 1916 ; Rathaiiah, 1976). Des résultats antérieurs ont montré que plusieurs facteurs gouvernent la pénétration des stomates par les tubes germinatifs de *C. beticola*. Il a été établi que les stomates ouverts exerçaient un stimulus attractif sur les tubes germinatifs (Pool et McKay, 1916) tandis que Canova (1959) suggère qu'il s'agit d'une réaction hydrotropique. Les conidies de *C. moricola* sont portées par les gouttes de pluies (Sukumar et Ramalingam, 1981b). Elles sont transportées à la surface inférieure des feuilles par les éclaboussures qui permettent l'accès naturel et, en raison de l'humidité, la germination et la pénétration. Un mécanisme similaire de déposition des conidies près des orifices a été décrit pour *Hemileia vastatrix* chez le café, où les conidies, déposées par l'air sont transportées depuis la surface supérieure des feuilles à proximité des stomates situés à la surface inférieure par les gouttes de pluie (Marshall Ward, 1882 ; Rayner, 1961).

On a montré que les solutions de rinçage des feuilles de mûrier matures inhibaient la germination des conidies et la longueur des tubes germinatifs de *C. moricola* (Sukumar, 1987) et que les feuilles de mûrier abritaient un nombre de micro-organismes croissant avec l'âge des feuilles (Sukumar, 1983). On a découvert que les filtrats de culture de nombreux de ces microbes inhibaient la germination des conidies de *C. moricola* et le développement des taches des feuilles (Sukumar et Ramalingam, 1987). Dans la présente étude, il est possible que la diminution du pourcentage de germination des conidies, de la longueur des tubes germinatifs et de la pénétration chez les feuilles matures soit due aux composants antifongiques produits par les feuilles et par la flore microbienne saprophyte existant sur celles-ci.

EXPRESSION OF SER1 AND SER2 GENES IN THE MIDDLE SILKGAND OF *BOMBYX MORI* DURING THE FIFTH INSTAR

J.-J. MICHAILLE, A. GAREL & J.-C. PRUDHOMME

Centre de Génétique moléculaire et cellulaire, U.M.R. 106, Université Claude Bernard-Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

The expression of two sericin genes (Ser1 and Ser2) of Bombyx mori during the fifth instar was studied using "dot blots" hybridizations of middle silk gland total RNA to various probes stemming from Ser1 and Ser2. Results show that Ser2 begins operating earlier than Ser1. The accumulation of Ser2 mRNAs is faster in the early fifth instar, then becomes rather low. On the contrary, Ser1 mRNAs accumulate exponentially, the final accumulation rate (nearly 1,300) being reminiscent of that of silk fibroin and P25 mRNAs in the posterior silk gland (about 40,000 and 300 respectively). Moreover, the fact that the accumulation of Ser1 transcripts containing exon 3 (the 10,500 and 4,000 nt ones) belongs to the same type as that of mRNAs which do not contain it (the 9,000 and 2,800 nt ones) suggests that the regulation of Ser1 transcription and that of the primary transcript differential splicing are independent, which leads us to propose a possible model for differential maturation of Ser1 four mRNAs, in the light of our earlier findings (Michaille et al., 1986).

Keywords : *Bombyx mori*, larval development, differential splicing, silk gland, sericins, transcription.

INTRODUCTION

In *Bombyx mori*, sericins make up a group of proteins secreted by the middle silk gland which ensure the cocoon cohesion by sticking the silk threads together. These proteins, the molecular mass of which ranges between 65,000 and 400,000 daltons (Gamo et al., 1977 ; Prudhomme et al., 1985) contain from 16 to 38 % serine residue. The first sericin gene (Ser1) was cloned and partly sequenced (Okamoto et al., 1982 ; Michaille et al., 1986). It encodes four major mRNAs (10,500, 9,000, 4,000 and 2,800 nt, respectively) by differential splicing of a single primary transcript (Michaille et al., 1986; Hamada et al., 1987). The second gene (Ser2), recently characterized, produced two mRNAs by differential splicing, the one being 3,100 nt and the other reaching between 5,000 and 6,400 nt depending on the allele considered (Michaille et al., 1990).

Ser1 and Ser2 expressions are territorially regulated (Couble et al., 1987). During the fifth instar, Ser1 is transcribed into the 150 back cells of the middle silk gland, and only in these cells. However, the 42 cells directly adjoining the posterior silk gland continuously and solely produce 2,800 nt mRNA, whereas 4,000, 10,500 then 9,000 nt mRNAs accumulate successively in the other 108 cells. On the contrary, at the onset of the same stage, Ser2 transcripts are found throughout the middle silk gland, then their production is gradually restricted to its far front part, a part in which Ser1 gene does not express. Our observations had formerly shown that the accumulation of Ser1 and Ser2 transcripts is not concomitant. There are many Ser2 transcripts in the fourth and early fifth instars, and they can still be detected during the fourth moult, contrary to Ser1 transcripts which are more abundant at the end of the fifth stage (Michaille et al., 1989).

In this paper a semi-quantitative study of Ser1 and Ser2 transcripts accumulation during the fifth instar is presented. Conversely to Ser1 whose functioning is late and whose transcripts accumulate exponentially, Ser2 expression takes place earlier, and its transcript accumulation rate is lower. Besides, Ser1 four mRNA accumulation is not simultaneous, the relative abundance of messengers containing exon 3 reaching its maximum on the fifth day before decreasing rapidly. These findings show that Ser1 transcription and the primary transcript differential splicing are regulated independently. Thus, in the light of our previous observations, we propose a possible model for differential splicing of Ser1 four mRNAs.

MATERIALS AND METHODS

Bombyx larvae (hybrids of the European strains 200 and 300), synchronized after the fourth moult, were reared at the 'Unité Nationale Séricicole' (La Mulatière - France). The rearing was carried out at 22°C (12 hour photoperiod) on mulberry leaves supplied four times daily.

Total RNA was extracted following Auffray and Rougeon's method (1980). The middle silk glands were homogenized straightaway in LiCl 3 M - urea 6 M - sodium acetate 10 mM pH:5 - SDS 0.5 % - heparin 200 µg/ml buffer. After overnight precipitation in ice, the mixture was centrifuged, and the supernatant suspended again in the LiCl 4 M - urea 8 M solution. After one more centrifugation, the pellet was dissolved in bi-distilled water, then after phenolic extraction, RNA was precipitated with ethanol. For the "dot blots" deposits, RNA was denatured for 3 minutes at 65°C in bi-distilled water. After adding 25 volumes of cold 20 × SSC buffer (1 × SSC: NaCl 0.15 M - 0.015 sodium citrate pH 7), the sample was laid on a nitrocellulose filter (Schleicher & Schüll 0.45 µm) by means of B.R.L. apparatus.

The probes were labelled by nick-translation by the procedure of Rigby *et al.* (1977) modified by Maniatis *et al.* (1982). The reaction lasts 3 hours at 12°C, with 0.05 ng DNase I (Boehringer), 5 units DNA-polymerase I (Boehringer), and 40 µCi α -[³²P]-dCTP and α -[³²P]-dTTP (Amersham 3,000 Ci/mole) in a 40 µl final volume. Hybridizations were carried out at 42°C for 16 hours in the following mixture, 50% formamid-5 × SSC - 1 × Denhardt (0.2 % polyvinylpyrrolidone; 0.02 % ficoll) - 0.5 % SDS - 10 mM EDTA - 100 µg/ml denatured salmon DNA. Filters were rinsed at 65°C successively in 2 × SSC - 0.1 % SDS, then in 0.1 × SSC - 0.1 % SDS. Optical density was measured with Kontron SLT 210 apparatus.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Ser1 and Ser2 transcripts accumulation kinetics during the fifth instar.

The middle silk gland total RNA, extracted every 12 hours after the fourth moult was dot-blotted then hybridized to two probes revealing respectively all the mRNAs of each of Ser1 and Ser2 genes. The pBm SE 2001 probe contains the Ser1 5' end which is present in the two corresponding mRNAs (Michaille *et al.*, 1990), and the pBm SE 5112 probe (cf. Fig. 4, [A]) comprises the first 102 nt of Ser1 exon 8 (e8) which hybridize to its four mRNAs (Michaille *et al.*, 1986; Michaille *et al.*, 1988).

The signal intensity obtained with pBm SE 2001 probe (Fig. 1, [A]) was maximum in the late fifth instar first day, then steadily decreased until the end of the 6th day. Inversely, the relative abundance of Ser1 transcripts constantly increased until the end of the 6th day (Fig. 1, [C]). Figure 2 shows the evolution of the relative concentration of both transcripts categories obtained after densitometry. These data confirm our previous study (Michaille *et al.*, 1989) which proved that Ser2 mRNAs are relatively more abundant in the 4th larval instar and early fifth one, that of Ser1 accumulating substantially only at the end of the latter. In the whole RNA Ser2 mRNAs therefore have an early synthesis, whereas those of Ser1 are produced later.

Given the organ growth which is reflected by the exponential increase of total RNA (i.e., essentially ribosomal RNA), the total quantity evolution of both genes transcripts can be followed (Fig. 3). This comparison shows that Ser1 transcript accumulation is exponential and parallel to that of total RNA, but with a 1 to 1.5 day shift. Between the 12th and 144th hour altogether, the amount of Ser1 transcripts increases by a coefficient nearing 1,300. This accumulation is reminiscent of that of silk fibroin and P25 mRNAs whose accumulation rates over the same period of time nearly amount

respectively to 40,000 (Maekawa & Suzuki, 1980) and 300 (Couble *et al.*, 1983). As for Ser2 transcripts, figure 3 confirms the bulky synthesis during the first day, then shows a low increase during the following days. Knowing that Ser2 transcription is gradually restricted to the front part of the middle silk gland on the 3rd day of the fifth instar and that mRNA present in the other parts then rapidly decline (Couble *et al.*, 1987) it may be thought that the plateau observed in Ser2 transcript accumulation between 48 and 72 hours results from the simultaneous occurrence of both phenomena. The same type of measurement made on the RNA extracted solely from the front region of the middle silk gland should conversely give a steadily increasing curve.

2. Comparison between accumulation kinetics of Ser1 transcripts containing exon 3 or not.

Among the four mRNAs of Ser1, the 9,000 and 2,800 nt ones do not contain any exon 3-derived sequence (Michaille *et al.*, 1986; Hamada *et al.*, 1987). Now, if 2,800 nt mRNA, and only this mRNA, is known to be present only in the foremost 42 cells of the middle silk gland, 4,000 nt mRNA is gradually replaced by the 10,500 then 9,000 nt one in the adjoining 108 cells (Couble *et al.*, 1987). We have therefore studied the accumulation of exon 3-containing transcripts (4,000 and 10,500 nt mRNAs and their precursors) during the fifth instar by total RNA "dot blots" hybridization to pBm SE 1023 probe (cf. Fig. 4, [A]) which contains Ser1 last 155 nt of intron 2 (i2) and first 216 nt of exon 3 (e3) (Michaille *et al.*, 1986).

In accordance with the previous findings (Couble *et al.*, 1987), the relative abundance of e3-containing transcripts was maximum towards the late 5th day and then rapidly decreased (Fig. 1 [B] and Fig. 2). This decrease is correlated with the production stopping and with the degradation of exon 3-containing mRNAs (4,000 and 10,500 nt), these taking place at the very same time the overall accumulation of Ser1 transcripts continues exponentially (Fig. 3). Finally, two types of mRNAs produced by Ser1 can be distinguished: one constant mRNA (the 2,800 nt), continuously present during the fifth instar (Couble *et al.*, 1987) and also during the 4th one (unpublished results) and probably during early stages, and three transitory mRNAs. The 4,000 nt mRNA, present during the early fifth instar (Couble *et al.*, 1987) and during the previous stages (Ishikawa & Suzuki, 1985) and which contain e3 but not e5, is in fact gradually replaced in the fifth instar by the 10,500 nt one (which contains both these exons), then by the 9,000 nt mRNA which contains e5 but not e3 (Michaille *et al.*, 1986; Michaille *et al.*, 1988).

It must be noted that the absolute quantity of transcripts containing early exon e3 increases exponentially between the 12th and 120th hour (Fig. 3). Moreover, between the 72nd and 120th hour, the absolute values determined from the curves corresponding to the two probes stemming from Ser1 (pBm SE 123 and 5113) increase by a magnitude of 5 (respectively from 20 to 100 % and 12.5 to 60 %), which suggests that differential splicing regulation of Ser1 primary transcript in the 108 cells which successively produce the three transitory mRNAs is totally independent from that of the transcription.

3. Possible model for exons e3 and e5 differential splicing regulation.

The study of the middle silk gland total RNA "northern" with pBm SE 5113 probe showed, besides the four mature mRNAs of Ser1, five minor RNA respectively about 23,600, 17,500, 15,000, 7,200 and 4,750 nt, the first one most probably corresponding to the primary transcript and the other four to maturation intermediaries. Out of these five RNA, the 15,000 and 4,750 nt ones were not detected by pBm SE 1023 probe, and were therefore devoid of exon e3 encoded sequences (Michaille *et al.*, 1986). The small number of intermediaries observed as compared to the expected theoretical number, given the presence of 8 introns within the gene, suggests that their accumulation is a direct consequence of the regulation process of the differential splicing of exons e3 and e5.

The current knowledge of gene Ser1 structure (Fig. 4, [A]) enables a possible model for differential splicing of exons e3 and e5 to be proposed (Fig. 4, [B]), assuming both these exons, when excised, are eliminated with the two flanking introns, i.e., respectively in the form of a complex i2 + e3 + i3 (8,450 nt) and i4 + e5 + i5 (more than 7,250 nt according to i5 exact length). Such an

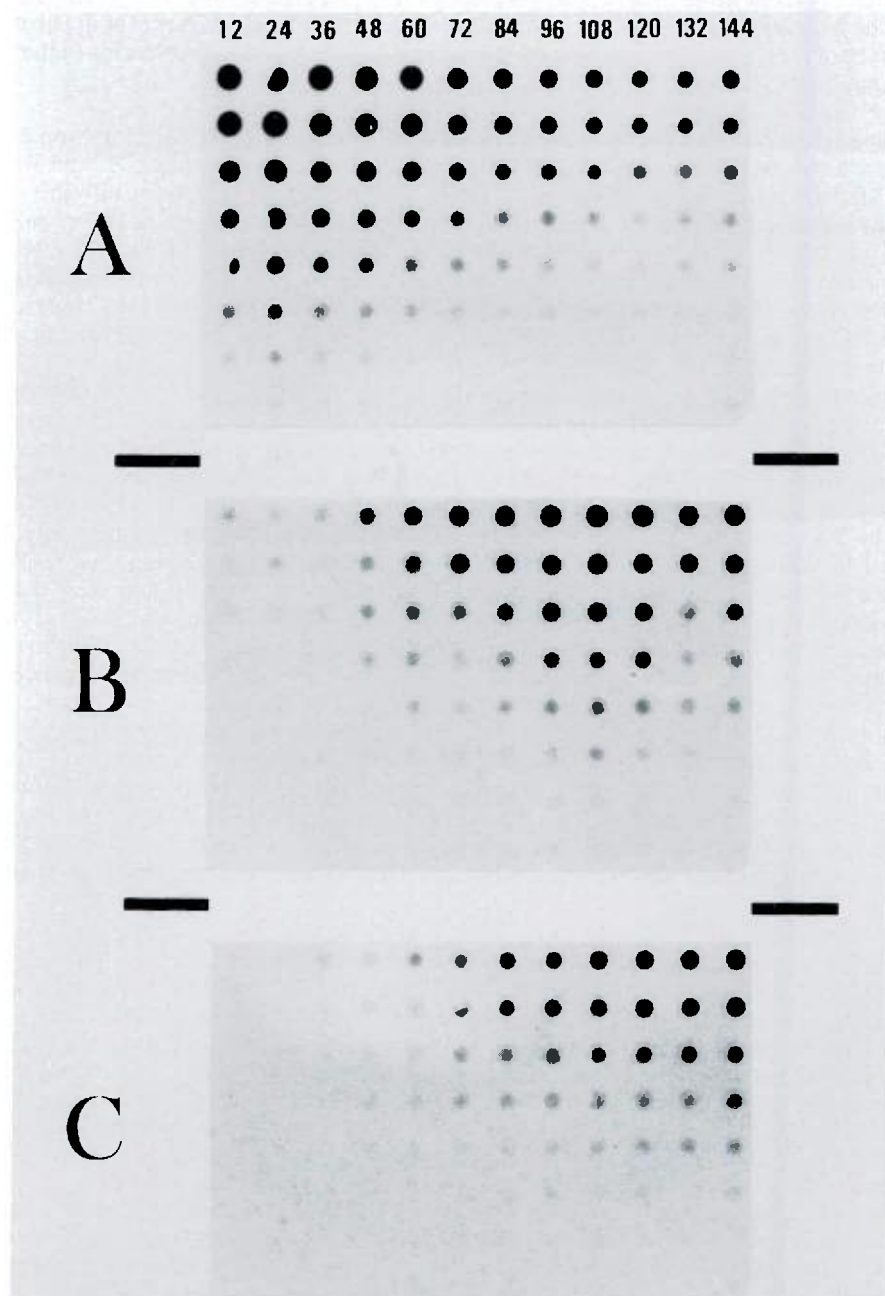


Fig. 1 : Ser1 and Ser2 transcripts asynchronous accumulation.

Total RNA, extracted every 12 hours from the full middle silk glands of a mixture of 200 × 300 hybrids, was deposited in "dot blots". On the first line, 4 µg RNA were deposited, then successively half as much was deposited on each of the following 7 lines. The probes used respectively are: in [A] pBm SE 2001 probe, which contains Ser2 5' region and hybridize to its two mRNAs, in [B] pBm SE 1023 probe which contains the last 155 nt of intron i2 and the first 216 nt of Ser1 differential exon e3 and which only detects 10,500 and 4,000 nt mRNAs, in [C] pBm SE 5113 probe which contains Ser1 exon e8 first 102 nt present in the four mature mRNAs.

Fig. 1 : Accumulation asynchrone des transcrits de Ser2 et Ser1.

L'ARN total, extrait de 12 heures en 12 heures à partir de réservoirs entiers d'un mélange d'hybrides 200 × 300, a été déposé en "dot blots". Sur la première ligne, 4 µg d'ARN ont été déposés, puis une quantité successivement moitié moindre sur chacune des 7 lignes suivantes. Les sondes utilisées sont respectivement : en [A], la sonde pBm SE 2001, qui contient la région 5' de Ser2, et s'hybride à ses deux ARNm; en [B], la sonde pBm SE 1023, qui contient les 155 derniers nt de l'intron i2 et les 216 premiers nt de l'exon différentiel e3 de Ser1, et qui ne détecte que les ARNm de 10 500 et 4 000 nt ; en [C], la sonde pBm SE 5113, qui contient les 102 premiers nt de l'exon e8 de Ser1, présent dans les quatre ARNm matures.

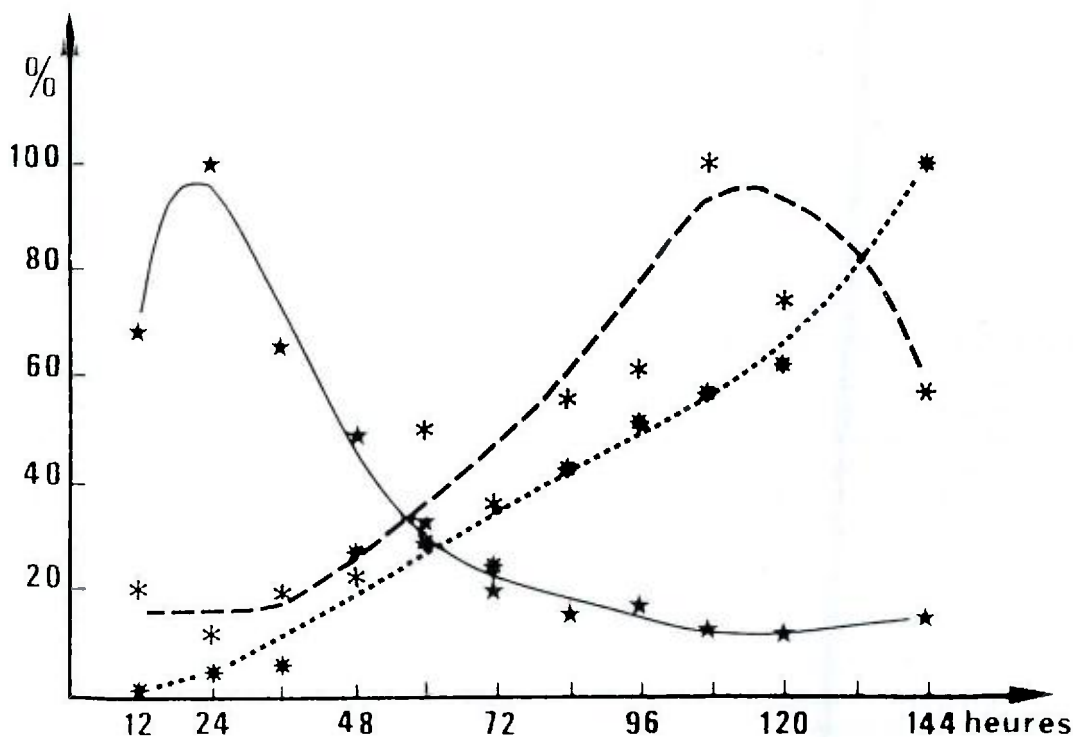


Fig. 2 : Comparison between Ser1 and Ser2 transcript relative accumulation kinetics.

The optical density of the "dot blots" of figure 1 was made by means of Kronton SLT 210 apparatus. Data are expressed as per cent of the maximal observed value. The curves respectively correspond to the measurement made after hybridizing the "dot blots" of figure 1 with probes pBm SE 2001 (★ —), pBm SE 1023 (* —) and pBm SE 5113 (★ -----).

Fig. 2 : Comparaison des cinétiques d'accumulation relative des transcrits de Ser1 et Ser2.

Les mesures densitométriques des "dot blots" de la figure 1 ont été effectuées à l'aide de l'appareil Kronton SLT 210. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de la valeur maximum observée. Les courbes correspondent respectivement aux mesures effectuées après hybridations des "dot blots" de la figure 1 aux sondes pBm SE 2001 (★ —), pBm SE 1023 (* —) et pBm SE 5113 (★ -----).

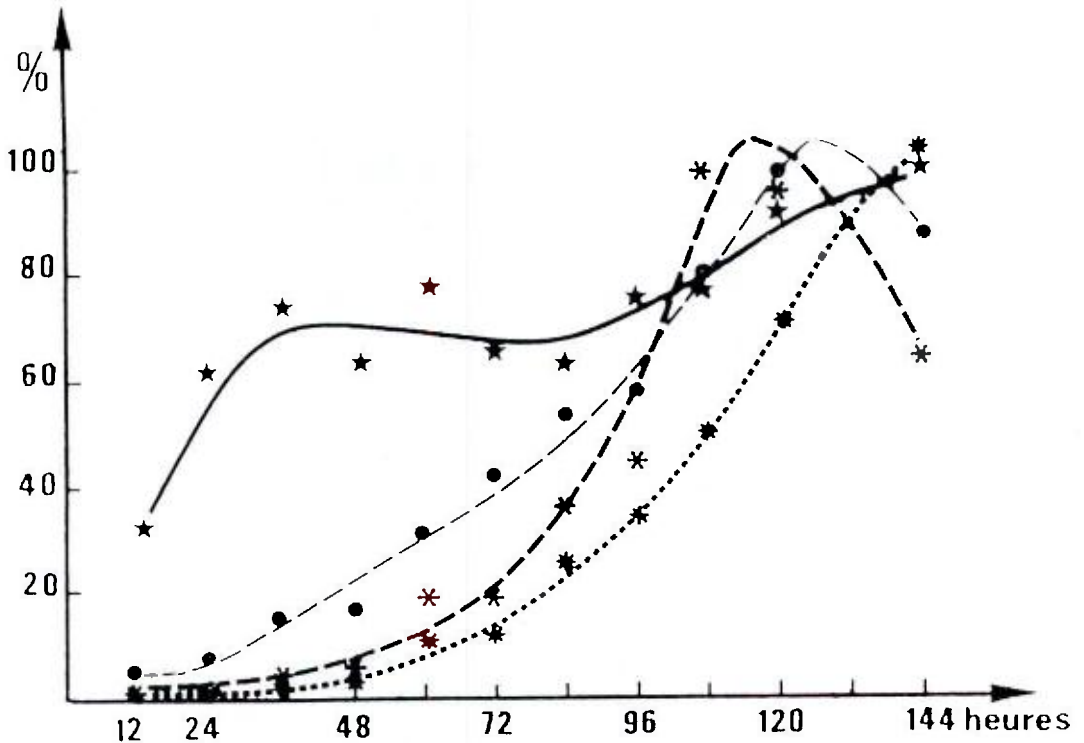


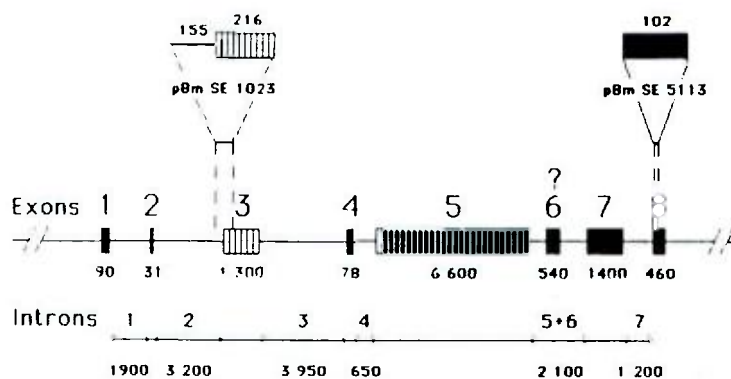
Fig. 3 : Comparison between Ser1 and Ser2 transcripts absolute accumulation kinetics.

The optical density presented in figure 2 was multiplied respectively by the amount of total RNA in μg during the time considered. The results are expressed as percentages of the maximal value. The curves correspond respectively to the measurement made after hybridizing the "dot blots" of figure 1 with probes : pBm SE 2001 ($\star$ —), pBm SE 1023 ($\ast$ —) and pBm SE 5113 ($\star$ ). Total RNA accumulation per middle silk gland is also expressed as the maximal value percentage ($\bullet$ —).

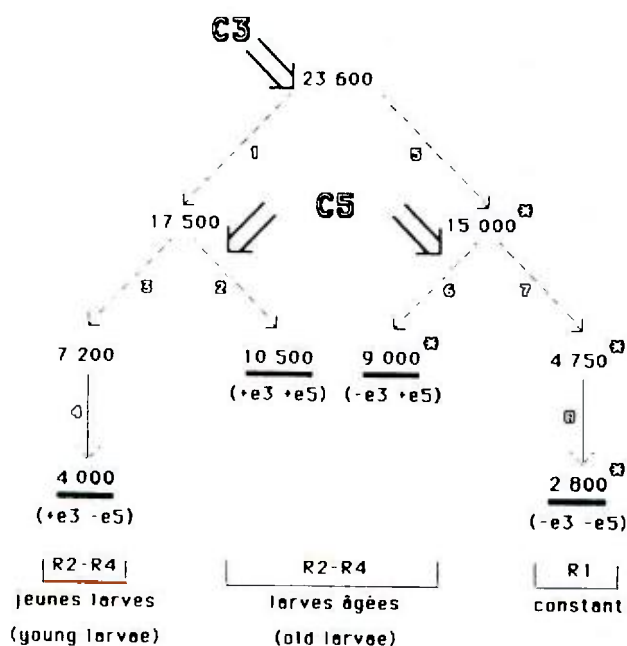
Fig. 3 : Comparaison des cinétiques d'accumulation absolue des transcrits de Ser1 et Ser2.

Les mesures densitométriques présentées sur la figure 2 ont été multipliées respectivement par la quantité en μg d'ARN total au temps considéré. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la valeur maximale prise comme référence 100 %. Les courbes correspondent respectivement aux mesures effectuées après hybridations des "dot blots" de la figure 1 aux sondes pBm SE 2001 ($\star$ —), pBm SE 1023 ($\ast$ —) et pBm SE 5113 ($\star$ ). L'accumulation de l'ARN total par réservoir est également présentée en pourcentage de la valeur maximale ($\bullet$ —).

EXPRESSION OF SERICIN GENES IN THE MIDDLE SILKGLAND



A



B

Fig. 4 : Possible model for Ser1 mRNA differential splicing.

→ A. Ser1 gene structure, as appears from current knowledge (Okamoto *et al.*, 1982 ; Michaille *et al.*, 1986 ; Michaille *et al.*, 1988). The exons and introns length is indicated in nt. The position and exact length of exon e6 (marked "?") remain undetermined. The differential exons are indicated by the light boxes and the ubiquitous exons by the dark boxes.

→ B. The length of the mature mRNAs (underlined) and their precursors are given in nt. The RNAs which were not detected by pBm SE 1023 probe (i.e., which contain neither exon e3 nor intron i2) are signposted with stars. These indications are deduced from the study of the middle silk gland total RNA "northern" (cf. Michaille *et al.*, 1986). The arrows indicate factor C3 and C5 estimated levels of action, estimated so as to enable respectively differential exons e3 and e5 to be maintained. This model implies that the following introns are successively eliminated : [1], i1 + i3 (5,850 nt) ; [2], (i4 + i5 + i6 + i7) + i2 (7,150 nt) ; [3], (i4 + e5 + i5) + i6 + i7 (10,550 nt) ; [4], i2 (3,200 nt) ; [5], i2 + e3 + i3 (8,450 nt) ; [6], (i4 + i5 + i6 + i7) + i1 (5,850 nt) ; [7], (i4 + e5 + i5) + i6 + i7 (10,550 nt) ; [8], i1 (1,900 nt). Ser1 gene is transcribed only in the back 150 cells of the middle silk gland, in the regions previously defined back to front as R1, R2, R3 and part of R4. R1 corresponds to the 42 cells directly adjoining the posterior silk gland (Couble *et al.*, 1987). The parts in which the various RNA are produced are indicated at the bottom of the figure. By young larvae is meant the first four stages and first two or three days of the fifth instar larvae.

Fig. 4 : Modèle possible d'épissage différentiel des ARNm de Ser1.

→ A : Structure du gène Ser1, telle qu'elle ressort des connaissances actuelles (Okamoto *et coll.*, 1982 ; Michaille *et coll.*, 1986 ; Michaille *et coll.*, 1988). Les longueurs des exons et introns sont indiquées en nt. La position et la longueur exactes de l'exon 6 (marqué par un ?) restent indéterminées. Les exons différentiels sont indiqués par les boîtes claires, et les exons ubiquistes par les boîtes noires.

→ B : Les longueurs des ARNm matures (soulignés) et de leurs précurseurs sont données en nt. Les ARN non détectés par la sonde pBm SE 123 (c'est-à-dire qui ne contiennent ni l'exon e3 ni l'intron i2) sont indiqués par une étoile. Ces indications sont déduites de l'étude de "northern" d'ARN total du réservoir (cf. Michaille *et coll.*, 1986). Les flèches indiquent les niveaux d'action supposés des facteurs C3 et C5, supposés pour permettre respectivement la conservation des exons différentiels e3 et e5. Le modèle suppose que les introns suivants sont successivement éliminés : [1] : i1 + i3 (5 850 nt) ; [2] : (i4 + i5 + i6 + i7) + i2 (7 150 nt) ; [3] : (i4 + e5 + i5) + i6 + i7 (10 550 nt) ; [4] : i2 (3 200 nt) ; [5] : i2 + e3 + i3 (8 450 nt) ; [6] : (i4 + i5 + i6 + i7) + i1 (5 850 nt) ; [7] : (i4 + e5 + i5) + i6 + i7 (10 550 nt) ; [8] : i1 (1 900 nt). Le gène Ser1 n'est transcrit que dans les 150 cellules postérieures du réservoir, dans les régions précédemment définies de l'arrière vers l'avant comme R1, R2, R3 et une partie de R4. R1 correspond aux 42 cellules situées immédiatement au contact de la partie postérieure de la glande (Couble *et coll.*, 1987). Les parties dans lesquelles les divers ARN sont produits sont indiquées au bas de la figure. Par larves jeunes on entend des larves des quatre premiers stades et des deux à trois premiers jours du cinquième.

excision mode of differential exons was demonstrated for instance in the case of mRNA differential maturation from the same primary transcript of calcitonin gene (Bovenberg *et al.*, 1986).

As 15,000 nt RNA is not detected by 1023 probe –having then lost e3 (1,300 nt) and i2 (3,200 nt)– it cannot directly derive from 17,500 nt which hybridize to this same probe. Likewise, it cannot be a precursor of the 10,500, 7,200 and 4,000 nt ones which contain e3. It is therefore concluded that both these large-sized precursors are on two differential splicing paths (Fig. 4, [B]), the choice of which would be immediately made on the primary transcript. 15,000 nt RNA production could be explained by the elimination of the set i2 + e3 + i3 (8,450 nt).

In either case, the elimination of e5 in the form i4 + e5 + i5 (more than 7,250 nt) would rule out 7,200 and 4,700 nt intermediary RNA to derive directly from respectively 10,500 and 4,750 nt mature mRNAs, and would then locate 17,500 and 15,000 nt precursors at the intersection between two splicing paths symmetrically governing the retention or the elimination of e5. From the 15,000 nt precursor, 9,000 nt mRNA maturation – which could not derive from 10,500 nt mature mRNA by eliminating only e3 – could be achieved by eliminating (i4 + i5 + i7) + i1 – viz., 5,850 nt – and that of the 4,750 nt intermediary by eliminating (i4 + i5) + i6 + i7 – viz., 10,550 nt. This latter RNA would then enable then 2,800 nt mRNA maturation by i1 elimination (1,900 nt). In the branch "with e3" 4,000 nt mRNA maturation from the 7,200 nt intermediary can only be explained by the elimination of i2 (3,200 nt), which would then be present in the 17,500 nt precursor. Symmetrically to branch "without e3", from 17,500 nt precursor, 7,200 nt RNA production may be done by eliminating (i4 + e5 + i5) + i6 + i7 – viz., 10,550 nt – and that of 10,500 nt RNA by eliminating (i4 + i5 + i6 + i7) + i2 – viz., 7,150 nt. It can finally be deduced that 17,000 nt maturation is done by eliminating i1 + i3 (5,850 nt) from the primary transcript.

The change from one differential splicing mode to another within the 108 same cells during larval development (Couble *et al.*, 1987) could be explained by assuming that "trans" acting regulating factors operate. The latter may be positive factors needed to maintain in mature mRNA exons e3 and/or e5 which are normally eliminated. Such positive factors regulate the transcript differential splicing of the gene encoding human common leukocyte antigen (Streuli and Saito, 1989), and, probably that of the troponin T gene transcripts in the rat skeleton muscle as well (Breitbart and Nadal-Ginard, 1987). The fixing of a factor C3 directly on the 23,600 nt primary transcript would prevent the set i2 + e3 + i3 from being eliminated, directing maturation towards the branch "with e3". Similarly, late exon e5 preservation could be regulated by a factor C5 capable of fixing on 17,500 and 15,000 nt precursors and of preventing set i4 + e5 + i5 from being eliminated, furthering thereby the independent excision of introns i4 + i5.

In this model factor C3 would be an early factor present until the early fifth instar within the 108 cells which produce 4,000 nt mRNA. C5 production would then start in the same cells, coexistence of these two factors corresponding to the maturation period of 10,500 nt mRNA which contains e3 and e5. C3 disappearance would next entail the elimination of exon e3, and therefore the maturation of 9,000 nt mRNA. The permanent presence of 2,800 nt mRNA in the 42 cells adjacent to the silkgland back part could easily be explained by the absence of C3 and C5 in these cells.

CONCLUSION

Sericin gene expression in the middle silkgland is not concomitant, contrary to what had been observed for silk fibroin and P25 genes in the posterior silkgland. Gene Ser2 operates earlier, its two messenger RNAs being relatively more abundant in the 4th and early 5th instars. On the contrary, Ser1 transcripts are more abundant in the late 5th instar, which suggests that they encode cocoon major sericins.

The comparative study of Ser1 and Ser2 transcription during the fifth instar shows that Ser1 transcript accumulation is exponential, as is the case for that of fibroin (Maekawa & Suzuki, 1980) and P25 (Couble *et al.*, 1983) messenger RNAs. On the contrary, during the same period, Ser2 transcript accumulation is slower. These findings could shed light on the comparisons between the sequences located immediately upstream from these four silk genes. Ser1 genes and those of fibroin and P25 indeed contain many homologies (Okamoto *et al.*, 1982; Couble *et al.*, 1985) as well as inverted repeated sequences which act as an activator of transcription (Tsuda & Suzuki, 1981; Tsuda

and Suzuki, 1983). On the contrary upstream from Ser2 gene whose transcripts accumulate according to kinetics different from that of the other three mRNAs, such homologies are not found, nor is found the same type of inverted repeated sequence (unpublished results). Transcription regulation of gene Ser2 can therefore be expected to be carried out according a fairly different mechanism from the one controlling that of the other three genes. Preliminary results (unpublished) thus show that genes Ser1 and Ser2 respond differently to the experimental modification of haemolymph juvenile hormone concentration. Besides, the fast disappearance of the Ser1 transcripts that contain exon e3 towards the fifth instar fifth day (and this while gene transcription remains high) as well as the disappearance of Ser2 transcripts in the medium and posterior regions of the middle silk gland as early as the fifth instar show that an essential stage in the sericin production regulation acts on the corresponding mRNA life span, a type of regulation which is also exerted on fibroin and P25 mRNA in the posterior silk gland.

Among the four mRNAs of Ser1, 2,800 nt mRNA, and only this mRNA, is consistently present in the posterior 42 cells of the middle silk gland. On the contrary, in the adjoining 108 cells, 4,000 nt mRNA, present until the early fifth instar, is afterwards gradually replaced by the 10,500 one, then the 9,000 nt one (Couble *et al.*, 1987). The study of 4,000 and 10,500 nt mRNA accumulation using a probe containing a fragment of the early exon e3 suggests that differential splicing regulation of Ser1 primary transcript is independent from that of its transcription. This is probably carried out thanks to two regulating factors acting in "trans" (C3 and C5), which would act positively, allowing respectively early exon e3 and late exon e5 retention by fixing on the sequences present in both these exons and/or in the flanking introns. The data available on the functioning of the middle silk gland indicate that C3 should be an early factor present during every instar, whereas C5 would only be produced in the fifth instar. The absence of these factors in the 42 cells producing 2,800 nt mRNA would thus necessarily lead to the exclusion of the two exons e3 and e5. This model also implies that exons e3 and e5 and/or the flanking introns contain sequences carrying regulating information in "cis". Mutation and deletion experiments in these parts of the gene should enable the sequences to be located precisely, opening up thereby the path to identification and isolation of the regulating factors acting in "trans".

REFERENCES

- AUFFRAY C., ROUGEON T. (1980), Purification of mouse immunoglobulin heavy chain messenger RNAs from total myeloma tumor RNA. *Euro. J. Biochem.*, 107, 303-334.
- BOVENBERG R.A.L., van de MEERENDONK W.P.M., BAAS P.D., STEENBERGH P.H., LIPS C.J.M., JANSZ H.S. (1986), Model for alternative RNA processing in human calcitonin gene expression. *Nucl. Acids Res.*, 14, 8785-8803.
- BREITBART R.E., NADAL-GINARD B. (1987), Developmentally induced, muscle-specific *trans* factors control the differential splicing of alternative and constitutive troponin T exons. *Cell*, 49, 793-803.
- COUBLE P., CHEVILLARD M., MOINE A., RAVEL-CHAPUIS P., PRUDHOMME J.C. (1985), Structural organization of the P25 gene of *Bombyx mori* and comparative analysis of its 5' flanking DNA with that of the fibroin gene. *Nucl. Acids Res.*, 13, 1801-1814.
- COUBLE P., MICHAILLE J.J., GAREL A., COUBLE M.L., PRUDHOMME J.C. (1987), Developmental switches of sericin mRNA splicing in individual cells of *Bombyx mori* silk gland. *Develop. Biol.*, 124, 431-440.
- COUBLE P., MOINE A., GAREL A., PRUDHOMME J.C. (1983), Developmental variations of a nonfibroin mRNA of *Bombyx mori* silk gland, encoding for a low-molecular-weight silk protein. *Develop. Biol.*, 97, 398-407.
- GAMO T., INOKUCHI T., LAUFER H. (1977), Polypeptides of fibroin and sericin secreted from the different sections of the silk gland in *Bombyx mori*. *Insect Biochem.*, 7, 285-295.
- HAMADA Y., YAMASHITA O., SUZUKI Y. (1987), Haemolymph control of sericin gene expression studied by organ transplantation. *Cell Differentiation*, 20, 65-76.
- ISHIKAWA E., SUZUKI Y. (1985), Tissue- and stage-specific expression of sericin genes in the middle silk gland of *Bombyx mori*. *Develop. Growth and Differ.*, 27, 73-82.

- MAEKAWA H., SUZUKI Y. (1980), Repeated turn-off and turn-on of fibroin gene transcription during silk gland development of *Bombyx mori*. Develop. Biol., 78, 394-406.
- MANIATIS T., FRITSCH E., SAMBROOK J. (1982), In "Molecular cloning : a laboratory manual". Cold Spring Harbor Laboratory, U.S.A.
- MICHAILLE J.J., COUBLE P., PRUDHOMME J.C., GAREL A. (1986), A single gene produces multiple sericin messenger RNAs in the silk gland of *Bombyx mori*. Biochimie, 68, 1165-1173.
- MICHAILLE J.J., GAREL A., PRUDHOMME J.C. (1988), The sericin 1 gene encodes several types of sequences rich in serine codons. Sericologia, 28, 3-15.
- MICHAILLE J.J., GAREL A., PRUDHOMME J.C. (1990), Cloning and characterization of the highly polymorphic *Ser2* gene of *B. mori*. Gene (in press).
- MICHAILLE J.J., GAREL A., PRUDHOMME J.C. (1989), The expression of five middle silk gland specific genes is territorially regulated during the larval development of *Bombyx mori*. Insect Biochem., 19, 19-27.
- OKAMOTO H., ISHIKAWA E., SUZUKI Y. (1982), Structural analysis of sericin genes. Homologies with fibroin gene in the 5' flanking nucleotide sequences. J. Biol. Chem., 257, 15192-15199.
- PRUDHOMME J.C., COUBLE P., GAREL J.P., DAILLIE J. (1985), Silk synthesis. In "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", 571-594, G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Eds., Pergamon, New York.
- RIGBY P., DIECKMANN M., RHODES C., BERG P. (1977), Labelling deoxyribonucleic acid to high specific activity *in vitro* by nick-translation with DNA polymerase I. J. Biol. Mol., 113, 237-251.
- STREULI M., SAITO H. (1989), Regulation of tissue-specific alternative splicing : exon-specific *cis*-elements govern the splicing of leukocyte common antigen pre-mRNA. E.M.B.O. J., 8, 787-796.
- TSUDA M., SUZUKI Y. (1981), Faithful transcription initiation of fibroin gene in a homologous cell-free system reveals an enhancing effect of 5' flanking sequence far upstream. Cell, 27, 175-182.
- TSUDA M., SUZUKI Y. (1983), Transcription modulation *in vitro* of the fibroin gene exerted by a 200-base-pair region upstream from the "TATA" box. Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 80, 7442-7446.

EXPRESSION DES GENES SER1 ET SER2 DANS LE RESERVOIR DE LA GLANDE SERICIGENE DE *BOMBYX MORI* AU COURS DU CINQUIEME STADE LARVAIRE

J-J. MICHAILLE, A. GAREL & J-C. PRUDHOMME

Centre de Génétique moléculaire et cellulaire, U.M.R. 106, Université Claude Bernard-Lyon I, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

L'expression de deux gènes de sérícines (Ser1 et Ser2) de Bombyx mori au cours du 5^{ème} stade larvaire a été suivie par hybridations de "dot blots" d'ARN total du réservoir à diverses sondes issues de Ser1 et Ser2. Les résultats montrent que Ser2 a un fonctionnement plus précoce que Ser1. L'accumulation des ARNm de Ser1 est de type exponentiel, le taux d'accumulation final -proche de 1 300- rappelant celui des ARNm de fibroïne et de P25 dans la partie postérieure de la glande sérícigène (respectivement environ 40 000 et 300). De plus, le fait que l'accumulation des transcrits de Ser1 qui contiennent l'exon 3 (ceux de 9 000 et 2 800 nt) suggère que la régulation de la transcription de Ser1 et celle de l'épissage différentiel du transcrit primaire sont indépendantes, ce qui nous amène à proposer un modèle possible de maturation différentielle des quatre ARNm de Ser1, à la lumière de nos résultats antérieurs (Michaille et coll., 1986).

INTRODUCTION

Chez *Bombyx mori*, les sérícines constituent un groupe de protéines sécrétées par la partie moyenne de la glande sérícigène (le réservoir) qui assurent la cohésion du cocon en collant les fils de soie entre eux. Ces protéines, d'une masse moléculaire comprise entre 65 000 et 400 000 daltons (Gamo et coll., 1977 ; Prudhomme et coll., 1985), contiennent de 16 à 38 % de résidus sérine. Un premier gène de sérícine (Ser1) a été cloné et partiellement séquencé (Okamoto et coll., 1982 ; Michaille et coll., 1986). Il code pour quatre ARNm majeurs (de respectivement 1 500, 9 000, 4 800 et 2 800 nt) par épissage différentiel d'un même transcrit primaire (Michaille et coll., 1986 ; Hamada et coll., 1987). Un second gène (Ser2), récemment caractérisé, donne deux ARNm par épissage différentiel, un de 3 100 nt et un autre de longueur comprise entre 5 000 et 6 400 nt selon l'allèle considéré (Michaille et coll., 1990).

L'expression de Ser1 et Ser2 est territorialisée (Couble et coll., 1987). Au cinquième stade larvaire, Ser1 est constamment transcrit dans les 150 cellules postérieures du réservoir, et elles seules. Toutefois, les 42 cellules situées immédiatement au contact de la partie postérieure de la glande sérícigène (le sécrèteur) produisent continuellement et uniquement de l'ARNm de 2 800 nt, alors que les ARNm de 4 000, 10 500 puis 9 000 nt s'accumulent successivement dans les 108 autres cellules. Au contraire, au début du même stade, les transcrits de Ser2 sont présents dans tout le réservoir, puis leur production se restreint progressivement à sa partie tout à fait antérieure, partie dans laquelle le gène Ser1 ne s'exprime pas. Nos observations antérieures avaient montré que l'accumulation des transcrits de Ser1 et Ser2 n'est pas concomitante. Les transcrits de Ser2 sont abondants au 4^{ème} stade larvaire et au début du 5^{ème}, et restent détectables pendant la 4^{ème} mue, à l'inverse des transcrits de Ser1 qui sont plus abondants à la fin du 5^{ème} stade (Michaille et coll., 1989).

Dans cet article, nous présentons une étude semi-quantitative de l'accumulation des transcrits de Ser1 et Ser2 au cours du 5^{ème} stade larvaire. Contrairement à Ser1 dont le fonctionnement est tardif et dont les transcrits s'accumulent de façon exponentielle, l'expression de Ser2 est plus précoce, et

le taux d'accumulation de ses transcrits est plus réduit. De plus, l'accumulation des quatre ARNm de Ser1 n'est pas simultanée, l'abondance relative des messagers qui contiennent l'exon 3 atteignant son maximum au 5^{ème} jour avant de décroître rapidement. Ces résultats montrent que la transcription de Ser1 et l'épissage différentiel du transcrit primaire sont régulés de façon indépendante. Ceci nous permet, à la lumière de nos observations antérieures, de proposer un modèle possible d'épissage différentiel des quatre ARNm de Ser1.

MATERIEL ET METHODES

Les larves de *Bombyx* (hybrides des souches européennes 200 et 300), synchronisées au sortir de la 4^{ème} mue, sont élevées à l'Unité Nationale Séricicole (La Mulatière - France). L'élevage est effectué à 22°C (photopériode de 12 heures) sur des feuilles de mûrier fournies quatre fois par jour.

L'ARN total est extrait par la méthode d'Auffray et Rougeon (1980). Les réservoirs sont immédiatement broyés dans le mélange LiCl 3 M - urée 6 M - acétate de sodium 10 mM pH 5 - SDS 0,5 % - héparine 200 µg/ml. Après précipitation une nuit dans la glace, la préparation est centrifugée, et le culot ressuspendu dans le mélange LiCl 4 M - urée 8 M. Après une nouvelle centrifugation, le culot est repris dans de l'eau bidistillée, puis, après extraction phénolique, l'ARN est précipité à l'éthanol. Pour les dépôts en "dot blots", l'ARN est dénaturé 3 minutes à 65°C dans de l'eau bidistillée. Après addition de 25 volumes de tampon 20 × SSC froid (1 × SSC: NaCl 0,15 M - citrate de sodium 0,015 M pH 7), l'échantillon est déposé sur filtre de nitrocellulose (Schleicher et Schüll 0,45 µm) à l'aide de l'appareil B.R.L.

Les sondes sont marquées par remplacement ("nick-translation") selon la procédure de Rigby et coll. (1977) modifiée par Maniatis et coll. (1982). La réaction dure 3 heures à 12°C en présence de 0,05 µg de DNase I (Boehringer), de 5 unités d'ADN-polymérase I (Boehringer), et de 40 µCi d' α -[³²P]-dCTP et d' α -[³²P]-dTTP (Amersham 3 000 Ci/mmol), dans un volume final de 40 µl. Les hybridations sont effectuées à 42°C pendant 16 heures dans le mélange formamide 50 % - 5 × SSC - 1 × Denhardt (polyvinylpyrrolidone 0,02 % ; ficoll 0,02 %) - SDS 0,5 % - EDTA 10 mM - ADN dénaturé de saumon 100 µg/ml. Le rinçage des filtres s'opère à 65°C successivement en 2 × SSC - 0,1 % SDS puis en 0,1 × SSC - 0,1 % SDS. Les mesures densitométriques sont réalisées avec l'appareil Kontron SLT 210.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Cinétique d'accumulation des transcrits de Ser1 et Ser2 au cours du 5^{ème} stade larvaire.

L'ARN total du réservoir, extrait toutes les 12 heures après la sortie de la 4^{ème} mue, a été déposé en "dot blots" puis hybridé à deux sondes révélant respectivement l'ensemble des ARNm de chacun des gènes Ser1 et Ser2. La sonde pBm SE 2001 contient la région 5' du gène Ser2, présente dans les deux ARNm correspondants (Michaille et coll., 1989a), et la sonde pBm SE 5112 (cf. Fig. 4, [A]) inclut les 102 premiers nt de l'exon 8 (e8) de Ser1, qui s'hybrident à ses quatre ARNm (Michaille et coll., 1986 ; Michaille et coll., 1988).

L'intensité du signal obtenu avec la sonde pBm SE 2001 (Fig. 1, [A]) est maximale à la fin du premier jour du 5^{ème} stade, puis décroît ensuite régulièrement jusqu'à la fin du 6^{ème} jour. Au contraire, l'abondance relative des transcrits de Ser1 augmente constamment jusqu'à la fin du 6^{ème} jour (Fig. 1, [C]). La figure 2 montre l'évolution de la concentration relative de ces deux catégories de transcrits obtenue après densitométrie. Ces données confirment notre précédente étude (Michaille et coll., 1989) qui établissait que les ARNm de Ser2 sont relativement plus abondants au 4^{ème} stade larvaire et au début du 5^{ème}, ceux de Ser1 ne s'accumulant fortement qu'à la fin de ce dernier. Ainsi, dans l'ensemble des ARN, les ARNm de Ser2 ont une synthèse précoce, alors que ceux de Ser1 sont produits plus tardivement.

Compte-tenu de la croissance de l'organe qui se reflète dans l'accroissement exponentiel de l'ARN total (c'est-à-dire essentiellement de l'ARN ribosomique), on peut suivre l'évolution de la quantité totale des transcrits de chacun des deux gènes (Fig. 3).

Cette comparaison montre que l'accumulation des transcrits de Ser1 est exponentielle et s'effectue parallèlement celle des ARN totaux, mais avec un décalage de un à un jour et demi. Au

total, entre la 12^{ème} et la 144^{ème} heure, la quantité de transcrits de Ser1 augmente d'un facteur proche de 1 300. Cette accumulation rappelle celle des ARNm de fibroïne et de P25 dont les taux d'accumulation sur la même période sont respectivement voisins de 40 000 (Mackawa et Suzuki, 1980) et 300 (Couble et coll., 1983). En ce qui concerne les transcrits de Ser2, la figure 3 confirme la synthèse massive au cours du premier jour, puis montre une faible augmentation les jours suivants. Sachant que la transcription de Ser2 se restreint progressivement à la partie antérieure du réservoir au 3^{ème} jour du 5^{ème} stade, et que les ARNm présents dans les autres parties se dégradent alors rapidement (Couble et coll., 1987), on peut penser que le palier observé dans l'accumulation des transcrits de Ser2 entre 48 et 72 heures résulte de la manifestation simultanée de ces deux phénomènes. Le même type de mesures effectuées à partir de l'ARN extrait uniquement de la région antérieure du réservoir devrait au contraire donner une courbe constamment croissante.

2. Comparaison des cinétiques d'accumulation des transcrits de Ser1 qui contiennent ou non l'exon 3.

Parmi les quatre ARNm de Ser1, ceux de 9 000 et 2 800 nt ne contiennent aucune séquence issue de l'exon 3 (Michaïlle et coll., 1986 ; Hamada et coll., 1987). Or on sait que, si l'ARNm de 2 800 nt (et lui seul) n'est présent que dans les 42 cellules les plus postérieures du réservoir, l'ARNm de 4 000 nt est progressivement remplacé par celui de 10 500 puis de 9 000 nt dans les 108 cellules adjacentes (Couble et coll., 1987). C'est pourquoi nous avons suivi l'accumulation des transcrits qui contiennent l'exon 3 (ARNm de 4 000 et 10 500 nt et leurs précurseurs) au cours du 5^{ème} stade larvaire par hybridation de "dot blots" d'ARN total avec la sonde pBm SE 1023 (cf. Fig. 4, [A]) qui contient les 155 derniers nt de l'intron 2 (i2) et les 216 premiers nt de l'exon 3 (e3) de Ser1 (Michaïlle et coll., 1986).

En accord avec les résultats précédents (Couble et coll., 1987), on constate que l'abondance relative des transcrits qui contiennent e3 passe par un maximum vers la fin du 5^{ème} jour puis décroît ensuite rapidement (Fig. 1, [B], et Fig. 2). Cette décroissance est corrélée avec la cessation de la production et la dégradation des ARNm contenant l'exon 3 (4 000 et 10 500 nt), lesquelles ont lieu alors même que l'accumulation globale des transcrits de Ser1 se poursuit selon un mode exponentiel (Fig. 3). On peut finalement distinguer deux types d'ARNm produits par Ser1 : un ARNm constant (celui de 2 800 nt), continuellement présent au 5^{ème} stade larvaire (Couble et coll., 1987) mais aussi au 4^{ème} (résultats non publiés) et probablement dans les stades plus précoces, et trois ARNm transitoires. L'ARNm de 4 000 nt, présent au début du 5^{ème} stade larvaire (Couble et coll., 1987) et aux stades précédents (Ishikawa et Suzuki, 1985), et qui contient e3 mais non e5, est en effet progressivement remplacé au 5^{ème} stade par celui de 10 500 nt (qui contient ces deux exons), puis par l'ARNm de 9 000 nt qui contient e5 mais pas e3 (Michaïlle et coll., 1986 ; Michaïlle et coll., 1988).

Il faut remarquer que la quantité absolue des transcrits qui contiennent l'exon précoce e3 augmente de manière exponentielle entre 12 et 120 heures (Fig. 3). De plus, entre 72 et 120 heures, les valeurs absolues déterminées à partir des courbes correspondant aux deux sondes issues de Ser1 (pBm SE 1023 et 5113) sont toutes deux multipliées par un facteur 5 (passant respectivement de 20 à 100 % et de 12,5 à 60 %), ce qui conduit à penser que la régulation de l'épissage différentiel du transcrit primaire de Ser1 dans les 108 cellules qui produisent successivement les trois ARNm transitoires est totalement indépendante de celle de la transcription.

3. Modèle possible de régulation de l'épissage différentiel des exons e3 et e5.

L'étude de "northern" d'ARN total du réservoir avec la sonde pBm SE 5113 faisait apparaître, outre les quatre ARNm matures de Ser1, cinq ARN mineurs de respectivement environ 23 600, 17 500, 15 000, 7 200 et 4 750 nt, le premier correspondant très vraisemblablement au transcrit primaire et les quatre autres à des intermédiaires de maturation. Parmi ces cinq ARN, ceux de 15 000 et 4 750 nt n'étaient pas détectés par la sonde pBm SE 1023, et étaient donc dépourvus de séquences codées par l'exon e3 (Michaïlle et coll., 1986). Ce petit nombre d'intermédiaires observé par rapport au nombre théorique attendu, compte-tenu de la présence de 8 introns dans le gène, suggère que leur accumulation est une conséquence directe de la mise en oeuvre des processus de régulation de l'épissage différentiel des exons e3 et e5. Les connaissances actuelles sur la structure du gène Ser1

(Fig. 4, [A]) permettent de proposer un modèle possible d'épissage différentiel des exons e3 et e5 (Fig. 4, [B]), en supposant que ces deux exons, lorsqu'ils sont éliminés, le sont avec les deux introns adjacents, c'est-à-dire respectivement sous la forme d'un complexe $i2 + e3 + i3$ (8 450 nt) et $i4 + e5 + i5$ (plus de 7 250 nt en fonction de la longueur exacte de $i5$). Un tel mode d'excision d'exons différentiels a été démontré par exemple dans le cas de la maturation différentielle des ARNm du gène de calcitonine à partir d'un même transcrit primaire (Bovenberg et coll., 1986).

N'étant pas mis en évidence par la sonde 1023 -ayant donc perdu e3 (1 300 nt) et i2 (3 200 nt)- l'ARN de 15 000 nt ne peut provenir directement de l'ARN de 17 500 nt, qui s'hybride à cette même sonde. De même, il ne peut pas être un précurseur de ceux de 10 500, 7 200 et 4 000 nt, qui contiennent e3. On en conclut que ces deux précurseurs de grande taille sont sur deux voies d'épissage différentes (Fig. 4, [B]), dont le choix s'effectuerait directement sur le transcrit primaire. La production de l'ARN de 5 000 nt s'expliquerait par l'élimination de l'ensemble $i2 + e3 + i3$ (8 450 nt).

Dans les deux cas, l'élimination de e5 sous la forme $i4 + e5 + i5$ (plus de 7 250 nt) excluerait que les ARN intermédiaires de 7 200 et 4 750 nt dérivassent directement des ARNm matures de respectivement 10 500 et 9 000 nt, et placerait donc les précurseurs de 17 500 et 15 000 nt à l'intersection de deux voies d'épissage gouvernant de façon symétrique la conservation ou l'élimination de e5. A partir du précurseur de 15 000 nt, la maturation de l'ARNm de 9 000 nt -qui ne pourrait dériver de l'ARNm mature de 10 500 nt par élimination du seul e3- se ferait par élimination de $(i4 + i5 + i6 + i7) + i1$ -soit 5 850 nt-, et celle de l'intermédiaire de 4 750 nt par élimination de $(i4 + e5 + i5) + i6 + i7$ -soit 10 550 nt-, ce dernier ARN permettant ensuite la maturation de l'ARNm de 2 800 nt par l'élimination de $i1$ (1 900 nt). Dans la branche "avec e3", la maturation de l'ARNm de 4 000 nt à partir de l'intermédiaire de 7 200 nt ne peut s'expliquer que par l'élimination de $i2$ (3 200 nt), qui serait donc présent dans le précurseur de 17 500 nt. Symétriquement à la branche "sans e3", à partir du précurseur de 17 500 nt, la production de l'ARN de 10 500 nt par élimination de $(i4 + e5 + i5) + i6 + i7$ -soit 10 550 nt- et celle de l'ARN de 10 500 nt par élimination de $(i4 + i5 + i6 + i7) + i2$ -soit 7 150 nt-. On en déduirait finalement que la maturation de l'ARN de 17 500 nt se fait par élimination de $i1 + i3$ (5 850 nt) à partir du transcrit primaire.

Le passage d'un mode d'épissage différentiel à un autre dans les 108 mêmes cellules au cours du développement larvaire (Couble et coll., 1987) s'expliquerait en supposant l'intervention de facteurs positifs nécessaires au maintien dans l'ARNm mature des exons e3 et/ou e5 normalement éliminés. De tels facteurs positifs régulent l'épissage différentiel des transcrits du gène codant pour l'antigène leucocytaire commun humain (Streuli et Saito, 1989), et probablement aussi celui des transcrits du gène de troponine T du muscle squelettique de rat (Breitbart et Nadal-Ginard, 1987). La fixation d'un facteur C3 directement sur le transcrit primaire de 23 600 nt interdirait l'élimination de l'ensemble $i2 + e3 + i3$, orientant la maturation vers la branche "avec e3". De même, la conservation de l'exon tardif e5 pourrait être régulée par un facteur C5 capable de se fixer sur les précurseurs de 17 500 et 15 000 nt et d'empêcher l'élimination de l'ensemble $i4 + e5 + i5$, favorisant par là-même l'excision indépendante des introns $i4$ et $i5$.

Dans ce modèle, le facteur C3 serait un facteur précoce présent jusqu'au début du 5^{ème} stade dans les 108 cellules qui produisent l'ARNm de 4 000 nt. La production de C5 débiterait alors dans les mêmes cellules, la coexistence de ces deux facteurs correspondant à la période de maturation de l'ARNm de 10 500 nt qui contient e3 et e5. Puis la disparition de C3 entraînerait l'élimination de l'exon e3 et donc la maturation de l'ARNm de 9 000 nt. La présence constante de l'ARNm de 2 800 nt dans les 42 cellules contiguës à la partie postérieure de la glande séricigène s'expliquerait simplement par l'absence de C3 et C5 dans ces cellules.

CONCLUSION

L'expression des gènes des sérécines dans le réservoir n'est pas concomitante, contrairement à ce qui avait été observé pour les gènes de fibroïne et de P25 dans la partie postérieure de la glande séricigène. Le gène *Ser2* a un fonctionnement précoce, ses deux ARN messagers étant relativement plus abondants au 4^{ème} et au début du 5^{ème} stade larvaire. Au contraire, les transcrits de *Ser1* sont plus abondants à la fin du 5^{ème} stade, ce qui suggère qu'ils codent pour les sérécines majeures du cocon.

L'étude comparative de l'évolution des transcrits de Ser1 et Ser2 au cours du 5^{ème} stade montre que l'accumulation des transcrits de Ser1 est exponentielle, tout comme celle des ARN messagers de fibroïne (Maekawa et Suzuki, 1980) et de P25 (Couble et coll., 1983). Au contraire, durant la même période, l'accumulation des transcrits de Ser2 est moins rapide. Ces résultats pourraient éclairer les comparaisons des séquences situées immédiatement en amont de ces quatre gènes de la soie. En effet, les gènes Ser1 et ceux de fibroïne et P25 contiennent de nombreuses homologies (Okamoto et coll., 1982 ; Couble et coll., 1985) ainsi que des séquences inversées répétées jouant le rôle d'activateur de la transcription (Tsuda et Suzuki, 1981 ; Tsuda et Suzuki, 1983). Au contraire, en amont du gène Ser2, dont les transcrits s'accumulent selon une cinétique différente de celle des ARNm des trois autres gènes, on ne retrouve pas de telles homologies, ni non plus le même type de séquence inversée répétée (résultats non publiés). On peut donc s'attendre à ce que la régulation de la transcription du gène Ser2 s'effectue selon un mécanisme assez différent de celui qui contrôle celle des trois autres gènes. Des résultats préliminaires (non publiés) montrent ainsi que les gènes Ser1 et Ser2 réagissent différemment à la modification expérimentale de la concentration de l'hormone juvénile dans l'hémolymphe. De plus, la disparition rapide des transcrits de Ser1 qui contiennent l'exon e3 vers le 5^{ème} jour du 5^{ème} stade larvaire (et ce, alors même que la transcription du gène reste forte) ainsi que la disparition des transcrits de Ser2 dans les régions médiane et postérieure du réservoir dès le 3^{ème} jour du 5^{ème} stade montrent qu'une étape essentielle de la régulation de la production des séricines joue sur la durée de vie des ARNm correspondants, un type de régulation qui s'exerce aussi sur les ARNm de fibroïne et de P25 dans la partie postérieure de la glande séricigène.

Parmi les quatre ARNm de Ser1, l'ARNm de 2 800 nt (et lui seul) est constamment présent dans les 42 cellules postérieures du réservoir. Au contraire, dans les 108 cellules adjacentes, l'ARNm de 4 000 nt, présent jusqu'au début du 5^{ème} stade, est ensuite progressivement remplacé par celui de 10 500 nt puis de 9 000 nt (Couble et coll., 1987). L'étude de l'accumulation des ARNm de 4 000 nt et 10 500 nt à l'aide d'une sonde qui contient un fragment de l'exon précoce e3 suggère que la régulation de l'épissage différentiel du transcrit primaire de Ser1 est indépendante de celle de sa transcription. Elle s'effectue probablement grâce à l'intervention de deux facteurs régulateurs agissant en "trans" (C3 et C5), qui agiraient positivement en permettant respectivement la conservation de l'exon précoce e3 et de l'exon tardif e5 en se fixant sur des séquences présentes dans ces deux exons et/ou dans les introns flanquants. Les données disponibles sur le fonctionnement du réservoir indiquent que C3 devrait être un facteur précoce présent à chaque stade larvaire, alors que C5 ne serait produit qu'au 5^{ème} stade. L'absence de ces facteurs dans les 42 cellules qui produisent l'ARNm de 2 800 nt conduirait ainsi automatiquement à l'exclusion des deux exons e3 et e5. Ce modèle suppose aussi que les exons e3 et e5 et/ou les introns qui les encadrent contiennent des séquences porteuses d'information régulatrice en "cis". Des expériences de mutations et délétions dans ces parties du gène devraient permettre de localiser précisément ces séquences, ouvrant alors la voie à l'identification et à l'isolement des facteurs régulateurs agissant en "trans".

STUDIES ON THE VARIABILITY AND INTERRELATIONSHIP BETWEEN SOME QUANTITATIVE CHARACTERS IN DIFFERENT BREEDS OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

G. S. RAJANNA & G. SREERAMA REDDY

Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasa Gangotri, Mysore - 570 006, India.

Growth and development during V stadium greatly influence the expression of cocoon productivity traits in silkworm, Bombyx mori. Hence, correlation studies were undertaken to establish the degree of dependency of cocoon productivity traits such as cocoon weight, pupal weight, shell weight and shell percentage on the V instar-5th day larval weight in tropical multivoltine C. nichii and bivoltine NB7 and NB18 races. Interestingly, cocoon weight, pupal weight and shell weight revealed significant correlations in both sexes of all the races under study but for shell weight in the females of NB7 and NB18. The linear regression lines drawn for cocoon weight and pupal weight not only indicate the rate of change in cocoon weight and pupal weight with respect to change in V instar-5th day larval weight but also correspond with the sex of the larvae. The significance of the study and its practical utility have been discussed with reference to cocoon productivity.

Keywords : *Bombyx mori*, silkworm races, larval weight, cocoon weight, pupal weight, shell weight, shell ratio, correlation coefficient, regression coefficient, cocoon productivity.

INTRODUCTION

Growth and development leading to the increase in body size and dry weight of the cellular mass are dependent on the rate of metabolism, absorption of nutrients and stage of development. In silkworm, the larva attains maximum size and weight in the V instar largely due to the rapid development and higher rate of metabolism in silkglands (Ueda *et al.*, 1971). This is clearly evidenced by the marked increase in the amino acid acceptor activity up to the 5th day of V instar, followed by the consequent quantitative change in the t-RNA population leading to change in the protein synthesis in the silkgland cells (cf. Tazima, 1978). Therefore, V instar is one of the crucial stages in the growth, development and metabolism of silkworm contributing to the phenotypic expression of cocoon characters. Furthermore, the cocoon weight and pupal weight were reported to be influenced by the maternal inheritance, sex-linked inheritance and the interaction between the sex chromosomes and the rest of the genome (Legay, 1961). Keeping this in view, an attempt has been made to understand the significance and the extent of influence of V instar 5th day larval weight on the cocoon weight, pupal weight, shell weight and shell ratio in three silkworm races viz., tropical multivoltine *C. nichii*, bivoltine NB7 and NB18. The details of the investigation are presented in this paper.

MATERIALS AND METHODS

Two replicates of 25 larvae of each sex were randomly picked from the cellular rearing beds of *C. nichii*, NB7 and NB18 races, immediately after resumption of feeding after IV molt. Females and males were separately numbered and allowed to feed on M5 variety mulberry leaves in separate rearing beds up to the commencement of spinning. Individual weight of the serially numbered female and

male larvae was recorded on V instar-5th day (V-5). The numbered larvae were allowed to spin the cocoons in the corresponding pigeonholes of the mountages. The cocoons were harvested on 5th day after spinning and were subjected to single cocoon assessment. The data pertaining to individual cocoon weight, pupal weight, shell weight and shell ratio of males and females were compiled along with V-5 larval weight and subjected to correlation analysis between V-5 larval weight and the corresponding cocoon productivity characters in both sexes of the silkworm races under study (Tables I and II). Correlation coefficient (r) values computed to establish the relationship between V-5 larval weight with the cocoon weight and pupal weight were used to calculate the regression coefficient (b) and are depicted in figures 1 and 2 respectively.

RESULTS

As evidenced by the mean and ' r ' values obtained, the V-5 larval weight showed statistically significant ($P < 0.05$) correlations with cocoon weight and pupal weight in both sexes of all the races under study. Similarly, the V-5 larval weight showed significant ' r ' values with the shell weight in both sexes of *C. nichii* and males of NB7 and NB18 races. However, the ' r ' values obtained for shell ratio in both sexes of all the races were found to be statistically insignificant ($P > 0.05$, Tables I and II). In addition, sexual differences in mean and ' r ' values for the said quantitative traits were observed in all the races under study. The linear regression lines drawn for cocoon weight (Fig. 1) and pupal weight (Fig. 2) with respect to V-5 larval weight in both sexes of all the races indicate a linear relationship between them.

Table I. Mean values of Vth instar 5th day larval weight and cocoon traits along with their correlation coefficient values in females of three silkworm races, *C. nichii*, NB7 and NB18.

Tableau I. Valeurs moyennes du poids larvaire et des caractères du cocon au 5ème jour (5) du 5ème âge (V) et valeurs de leur coefficient de corrélation chez les femelles de trois races de vers à soies : C. nichii, NB7 et NB18.

Sl. no. Economic traits		Races / Races					
		C. nichii		NB7		NB18	
		Mean	r**	Mean	r**	Mean	r**
No. Caractères économiques série		Moyenne	r**	Moyenne	r**	Moyenne	r**
1	V-5 larval weight (g)	1.4578		2.7940		3.3690	
1	Poids larvaire V-5 (g)						
2	Cocoon weight (g)	0.8193	0.8820*	1.6280	0.7246*	1.7880	0.5491*
2	Poids du cocon (g)						
3	Pupal weight (g)	0.7336	0.8809*	1.3600	0.7446*	1.4840	0.5691*
3	Poids de la chrysalide (g)						
4	Shell weight (g)	0.0869	0.7273*	0.2687	0.2219	0.3044	0.4199
4	Poids de la coque (g)						
5	Shell ratio (%)	10.7151	0.3638	16.505	0.2410	17.0191	0.1836
5	Richesse soyeuse (%)						

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

** Correlation coefficient / *Coefficient de corrélation.*

DISCUSSION

The quantity and quality of the mulberry leaf consumed, digested and digestion ratio are intimately associated with the larval weight (Sunioka *et al.*, 1982). It is commonly believed that the V-5 larval weight has an impact on the cocoon productivity characters such as cocoon weight, pupal weight, shell weight and shell ratio. The interdependency of the characters mentioned above has been established by many investigators (Nataraj *et al.*, 1969 ; Petkov *et al.*, 1979, 1981 ; Shamachary *et al.*, 1980).

Table II. Mean values of Vth instar - 5th day larval weight and cocoon traits along with their correlation coefficient values in males of three silkworm races, C. nichii, NB7 and NB18.

Tableau II. Valeurs moyennes du poids larvaire et des caractères du cocon au 5ème jour (5) du 5ème âge (V) et valeurs de leur coefficient de corrélation chez les mâles de trois races de vers à soies : C. nichii, NB7 et NB18.

Sl. no.	Economic traits	Races / Races					
		C. nichii		NB7		NB18	
		Mean	r**	Mean	r**	Mean	r**
No.	Caractères économiques série	Moyenne	r**	Moyenne	r**	Moyenne	r**
1	V-5 larval weight (g)	1.2544		2.4732		3.1079	
1	Poids larvaire V-5 (g)						
2	Cocoon weight (g)	0.6429	0.9254*	1.3295	0.7398*	1.5107	0.5455*
2	Poids du cocon (g)						
3	Pupal weight (g)	0.5613	0.6566*	1.0827	0.7033*	1.2171	0.5015*
3	Poids de la chrysalide (g)						
4	Shell weight (g)	0.0816	0.5065*	0.2468	0.7641*	0.2941	0.7531*
4	Poids de la coque (g)						
5	Shell ratio (%)	12.7055	0.0258	18.6199	0.0011	19.5019	0.0219
5	Richesse soyeuse (%)						

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

** Correlation coefficient / Coefficient de corrélation.

The correlation coefficient values indicate a sensible reflection of the genetic constitution of the hereditary characters in the population which is subjected to the influence of various factors to induce variations (Legay, 1961). The present investigation on the interrelation between the V-5 larval weight and four cocoon productivity characters interestingly revealed significant correlations in both sexes for cocoon weight, pupal weight and shell weight in all the races under study but for the shell weight in the females of NB7 and NB18 races. Perusal of tables I and II reveals that the females, in general, have registered higher 'r' values than males. Hence relationship between V-5 larval weight with cocoon weight and pupal weight can be established in a more precise way in females than in males of the races under study. These results corroborate the findings of Legay (1961) who has reported

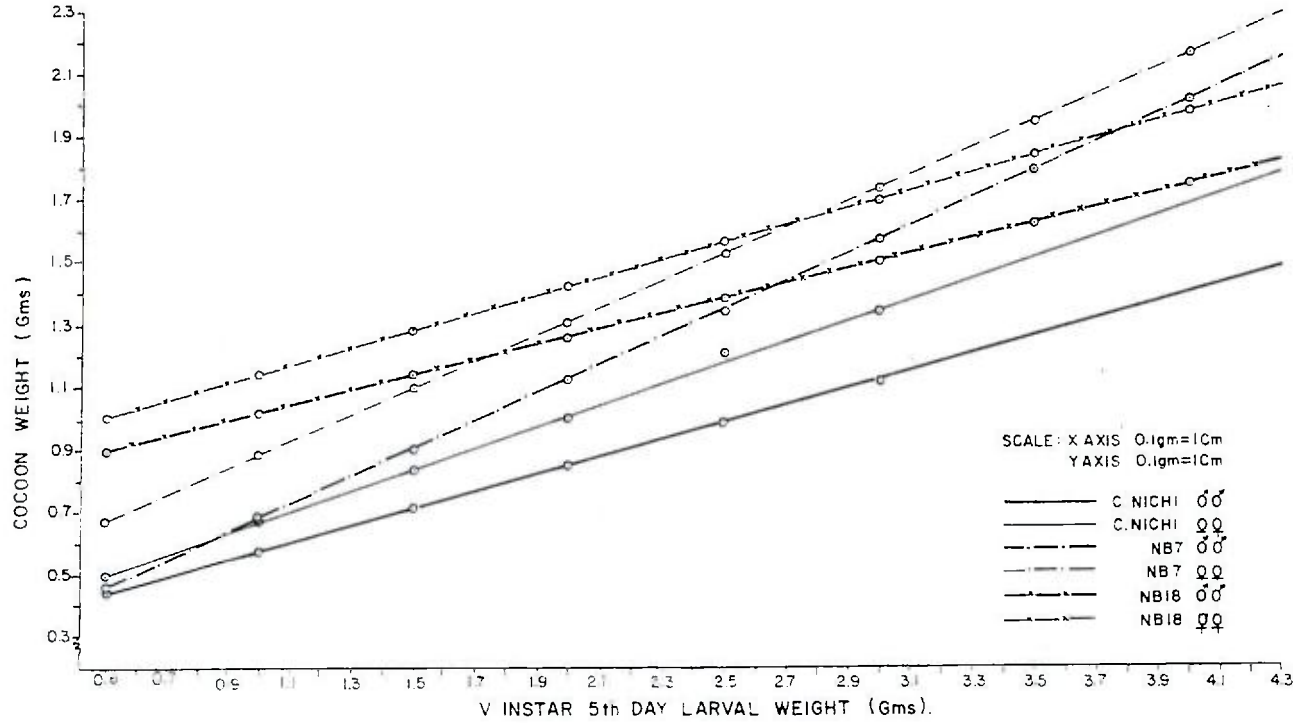


Fig. 1 : Variation in the Vth instar - 5th day (V-5) larval weight and the corresponding change in cocoon weight in both sexes of C. nichi, NB7 and NB18 races.

Fig. 1 : Variations du poids larvaire au cinquième jour du cinquième âge (V-5) et changements correspondants du poids du cocon chez les deux sexes des races de C. nichi, NB7 et NB18.

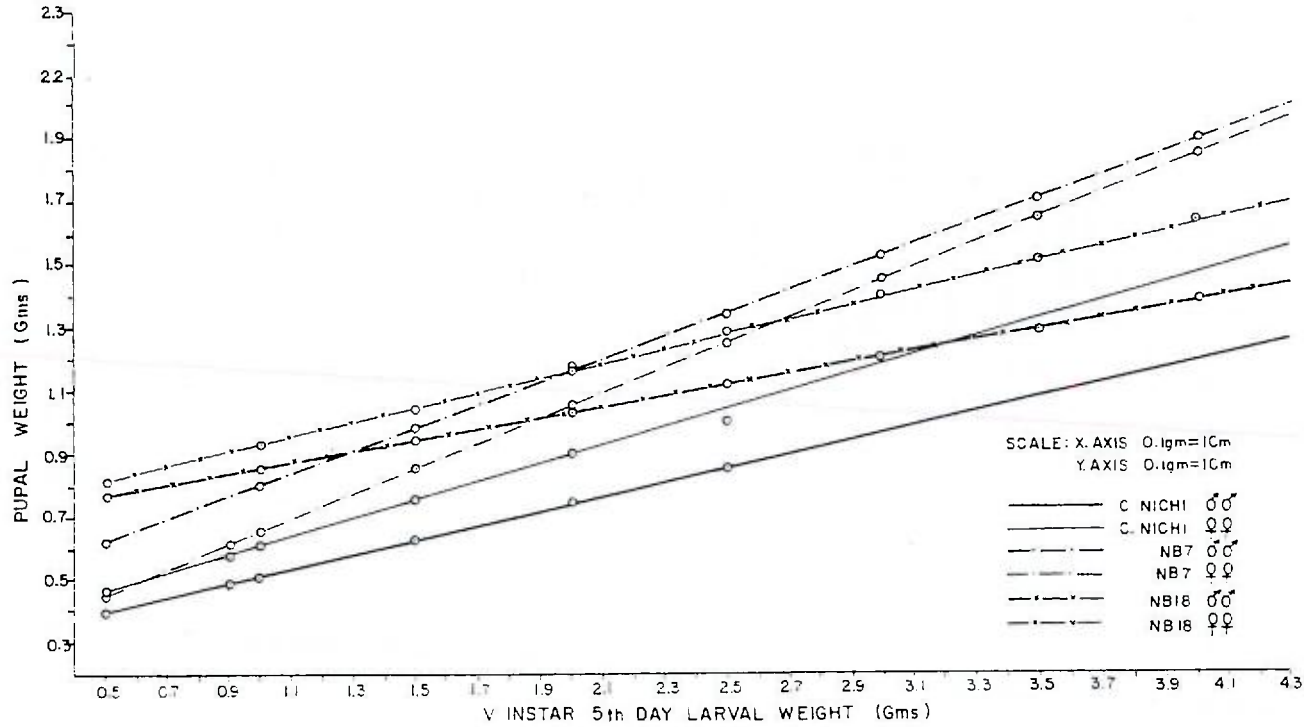


Fig. 2 : Variation in the Vth instar - 5th day (V-5) larval weight and the corresponding change in pupal weight in both sexes of *C. nichi*, NB7 and NB18 races.

Fig. 2 : Variations du poids larvaire au cinquième jour du cinquième âge (V-5) et changements correspondants du poids de la chrysalide chez les deux sexes des races de *C. nichi*, NB7 et NB18.

higher correlation coefficient values for pupal weight and shell weight in females than in males. Even though positive correlation exists between V-5 larval weight and shell weight, the 'r' values are not statistically significant in the females of NB7 and NB18 races, which exhibit comparatively higher mean larval weights than others. Therefore it appears that in both sexes of silkworm breeds with lesser mean V-5 larval weight, significant correlations can be more easily established with shell weight than with those possessing comparatively higher V-5 larval weight. This is demonstrated by the significant 'r' values ($P < 0.05$) for shell weight in both sexes of *C. nichii* and males of NB7 and NB18 races (Tables I and II).

Further, Yan (1983) has reported high heritability and genetic correlation between cocoon weight, pupal weight and egg number. On the other hand Oshiki *et al.* (1986) have established the relationship between egg size and quantitative characters. However, Long *et al.* (1987) have opined that silkworms have an inborn variability regarding the cocoon characters which determine silk productivity, wherein the mean values and the range of variation for each character are different. Similarly, it is clearly evident from the data (Tables I and II) that there is variability with regard to mean of the V-5 larval weight, cocoon weight, pupal weight, shell weight and their respective 'r' values in both sexes of all the races under study. This again corroborates the findings of Legay (1961) who, by estimating the variation coefficient for pupal weight and shell weight in males and females of 54 families of *Bombyx mori*, has concluded that the behaviour of the two sexes is different with respect to the said characters. These correlation coefficients for hereditary characters are detectable only at the population level and the very fact that correlation coefficients between the two characters could vary from one family to another and from one sex to another seems to prove that the varied correlation coefficient values for the hereditary characters have a genetic determination (Legay, 1961). Accordingly, the characters cocoon weight, pupal weight, shell weight and shell ratio have independently registered varied 'r' values with respect to V-5 larval weight in *C. nichii*, NB7 and NB18, respectively. Hence the higher V-5 larval weight and the corresponding higher cocoon productivity characters in highly productive bivoltine races, namely, NB7 and NB18 than the respective weights in the low productive multivoltine *C. nichii* race, to a large extent, is due to inherent genetic differences among them. Furthermore, Mastumura *et al.* (1977) are of the opinion that the rate of nitrogen retention in the silk gland is greater in the silkworm races of higher productivity than in the races of lower productivity. Therefore, it is more probable that the more productivity NB7 and NB18 races have registered the higher V-5 larval weight and corresponding increase in the cocoon productivity characters compared to less productive *C. nichii* race. However, the present study also indicates that the shell ratio is not influenced by the V-5 larval weight in all the races under study.

The regression lines for cocoon weight (Fig. 1) and pupal weight (Fig. 2) clearly establish their dependency in terms of rate of change in the cocoon weight and the pupal weight with respect to change in V-5 larval weight. The degree of differences as depicted in the regression lines is of immense help to compare such a rate of change between females and males of different races. The present study clearly demonstrates that the V-5 larval weight has a bearing on the cocoon productivity characters. Since the larval weight (V-5) itself is greatly influenced by the ambient environment such as nutrition, rearing environment, etc., corresponding changes in the cocoon traits are imminent. Therefore, variability and correlation studies will enable us to understand the degree of genotypic dependency of cocoon productivity characters on the V-5 larval weight. Further, the regression lines for cocoon weight (Fig. 1) and for pupal weight (Fig. 2) with respect to V-5 larval weight will enable us to estimate the total cocoon productivity of the races under study, on the commercial scale with more accuracy under a set of environmental conditions.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors are highly indebted to Prof. N.B. Krishnamurthy, Professor and Chairman and Principal Investigator, Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, Manasagangotri, Mysore, and to the University of Mysore, for providing required facilities. Special thanks are due to Dr. G. Subramanya, Lecturer in Sericulture, Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, Manasagangotri, Mysore, for technical help and to Dr. C. Raju, Lecturer, Department of Studies in Statistics, Manasagangotri, Mysore, for statistical analysis. One of the authors (G.S.

Rajanna) is grateful to the Government of Karnataka for the financial support under the World Bank Aided Karnataka Sericulture Research Project.

REFERENCES

- LEGAY J.M. (1961), Etude de la stabilité d'une corrélation entre deux caractères quantitatifs. Ann. Epiphyties, 12(4), 381-391.
- LEGAY J.M. (1961), Problèmes posés par l'estimation de l'héritabilité de quelques caractères quantitatifs chez *Bombyx mori* L. Annales de génétique, 4(2), 67-72.
- LONG N.V., PETKOV N. (1987), Breeding-genetic studies in some silkworm breeds. I. Variability and correlations of quantitative characters. Genet. Sel., 20(1), 58-62.
- MATSUMURA M., SOTO M. (1977), Studies on the digestion of the artificial diet for the silkworm, *B. mori* L. Silkworm races with different nitrogen retention rates. J. Seric. Sci. Jpn., 187A, 282-286.
- NATARAJ N., GANESH N.K. (1969), Variability and interrelationship between cocoon weight and shell weight in different breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. Silkworm Information Bull., 1, 85-94.
- OSHIKI T., SATO Y. (1986), Relationship between egg size and manifestation of quantitative characters in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 55(5), 410-414.
- PETKOV N. (1981), Variability and correlations between some characteristic features of silkworm, *Bombyx mori*. Thivotnov Dnauki, 18(3), 83-86.
- PETKOV N., ATANAS J. (1979), Influence of cocoon size and weight on heterosis effect in silkworm, *Bombyx mori*. Genet. Sel., 12(4), 286-291.
- SHAMACHARY M.V. SAMSON, KRISHNASWAMY (1980), Some useful correlation studies of silkworm and its products such as cocoon, pupa, shell and egg weight. Indian J. Seric., 19, 4-8.
- SUNIOKA H., KURODA S., YOSHITAKA N. (1982), Relationship among food indigestion, food digestion and body weight gain in the silkworm larvae, *Bombyx mori*, under restricted feeding by indices. J. Seric. Sci. Jpn., 51(1), 52-57.
- TAZIMA Y. (1978), cf. The silkworm, an important laboratory tool, Kodansha Ltd., Tokyo, 192-193.
- UEDA S., KIMURA R., SUZUKI K. (1971), Studies on the growth of silkworm, *B. mori*. III. Relative increase in body weight and silk gland weight in fifth instar larva. Bull. Seric. Expt. Stn., Tokyo, 25, 1.
- YAN L.L. (1983), Estimates of heritability and genetic correlation of pupal weight, cocoon shell weight and egg number and path analysis in silkworm, *Bombyx mori*. Sci. of Seric., 9(3), 149-155.

ETUDES SUR LA VARIABILITE ET LA CORRELATION ENTRE CERTAINS CARACTERES QUANTITATIFS CHEZ DIVERSES SOUCHES DU VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

G.S. RAJANNA & G. SREERAMA REDDY

Sericulture Research Project, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasa Gangotri, Mysore - 570 006, Inde.

*La croissance et le développement au cours du cinquième âge larvaire influencent fortement l'expression des caractères de productivité du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori*. Aussi des études sur la corrélation ont-elles été entreprises afin d'établir le degré de dépendance des caractères économiques du cocon tels que le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids et le pourcentage de la coque vis-à-vis du poids larvaire au cinquième jour du cinquième âge chez la souche polyvoltine tropicale *C. nichii* et chez les races bivoltines NB7 et NB18. Il est intéressant de noter que le poids du cocon, le poids de la chrysalide et le poids de la coque révèlent des corrélations significatives chez les deux sexes de toutes les races considérées, hormis le poids de la coque chez les femelles de NB7 et NB18. Les droites de régression établies pour le poids du cocon et celui de la chrysalide indiquent non seulement le taux de variation du poids du cocon et de celui de la chrysalide par rapport aux variations du poids larvaire au cinquième jour du cinquième âge mais aussi les caractéristiques liées aux sexes des larves. La signification de cette étude et son utilité pratique sont discutées par rapport à la productivité du cocon.*

INTRODUCTION

La croissance et le développement conduisant à l'augmentation de la taille du corps et du poids sec de la masse cellulaire dépendent du métabolisme, de l'absorption des aliments et du stade de développement. Chez le ver à soie, la larve atteint sa taille et son poids maximums au cinquième âge, principalement en raison du développement rapide et du taux élevé du métabolisme des glandes séricigènes (Ueda et coll., 1971). Ceci est clairement démontré par l'augmentation marquée de l'activité acceptrice des acides aminés jusqu'au cinquième jour du cinquième stade, suivie d'une augmentation de la population d'ARNt conduisant au changement de la synthèse des protéines chez les cellules de la glande séricigène (cf. Tazima, 1978). Le cinquième stade est donc, de par sa contribution à l'expression phénotypique des caractères du cocon, l'un des stades décisifs de la croissance, du développement et du métabolisme du ver à soie. De plus, il a été démontré que le poids du cocon et celui de la chrysalide étaient influencés par l'hérédité maternelle, l'héritabilité liée au sexe et l'interaction entre les chromosomes sexuels et le reste du génome (Legay, 1961). Dans cette optique, nous avons entrepris l'étude de la signification et de l'étendue de l'influence du poids de la larve au cinquième jour du cinquième stade sur le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids de la coque et la richesse soyeuse chez trois races de ver à soie, à savoir : la souche polyvoltine tropicale *C. nichii* et les souches bivoltines NB7 et NB8. Les résultats de cette étude sont présentés dans cet article.

MATERIELS ET METHODES

Deux réplicats de 25 larves de chaque sexe sont prélevés au hasard sur des litières d'élevage cellulaires de *C. nichi*, NB7 et NB18 dès la reprise du nourrissage après la 4ème mue. Les mâles et les femelles sont numérotés séparément et nourris de feuilles de mûrier de la variété M5 séparément jusqu'au début du filage. Le poids individuel des larves des mâles et des femelles numérotés est relevé au cinquième jour du cinquième stade (V-5). Les larves numérotées sont mises à filer dans les casiers correspondants des encabanages. Les cocons sont récoltés au cinquième jour après le filage et soumis aux mesures individuelles. Les données concernant le poids du cocon individuel, le poids de la chrysalide, le poids de la coque et la richesse soyeuse des mâles et des femelles, ainsi que le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade sont recueillies et soumises à l'analyse de corrélation entre le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade et les caractères économiques correspondants du cocon chez les deux sexes des races étudiées (Tableaux I et II). Les valeurs du coefficient de corrélation (r) estimées pour établir la relation entre le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade avec le poids du cocon et celui de la chrysalide permettent de calculer le coefficient de régression (b) ; ces coefficients sont présentés respectivement dans la figure 1 et la figure 2.

RESULTATS

Comme le montrent les valeurs " r " et les moyennes obtenues, le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade donne des corrélations statistiquement significatives ($p < 0,05$) avec le poids du cocon et celui de la larve chez les deux sexes des races étudiées. De même, le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade donne des valeurs " r " significatives avec le poids de la coque chez les deux sexes de *C. nichi* et chez les mâles de NB7 et NB18. Cependant, les valeurs " r " obtenues pour la richesse soyeuse chez les deux sexes de toutes les races étudiées se révèlent statistiquement non significatives ($p > 0,05$, tableaux I et II). De plus, on observe des différences entre les sexes pour les valeurs " r " et les moyennes en ce qui concerne les caractères quantitatifs considérés chez toutes les races étudiées. Les droites de régression correspondant au poids du cocon (Fig. 1) et au poids de la chrysalide (Fig. 2) par rapport au poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade indiquent une relation linéaire chez les deux sexes de toutes les races.

DISCUSSION

La quantité et la qualité des feuilles de mûrier consommées, digérées et le taux de digestion sont intimement associés au poids larvaire (Sunioka et coll., 1982). Il est communément admis que le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade influe sur certains caractères économiques du cocon tels que le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids de la coque et la richesse soyeuse. L'interdépendance de ceux-ci a été établie par de nombreux chercheurs (Nataraj et coll., 1969 ; Petkov et coll., 1979 ; Shamachary et coll., 1980).

Les valeurs du coefficient de corrélation reflètent sensiblement la constitution génétique des caractères héréditaires de la population qui est soumise à l'influence de divers facteurs induisant des variations (Legay, 1961). Le présent article permet de mettre en évidence des corrélations significatives chez les deux sexes en ce qui concerne le poids du cocon, le poids de la chrysalide et le poids de la coque chez toutes les races étudiées sauf pour le poids de la coque chez les femelles de NB7 et NB18. La lecture des tableaux I et II révèle que les femelles, en général, donnent des valeurs " r " plus élevées que les mâles. De ce fait, la relation entre le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade et le poids du cocon et celui de la coque peut être établie plus précisément chez les femelles que chez les mâles des races étudiées. Ces résultats corroborent ceux de Legay (1961) qui a démontré que les valeurs des coefficients de corrélation pour le poids de la chrysalide et le poids de la coque étaient plus fortes chez les femelles que chez les mâles. Même s'il existe une corrélation positive entre le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade et le poids de la coque, les valeurs " r " ne sont pas statistiquement significatives chez les femelles de NB7 et NB18, qui donnent comparativement des poids larvaires moyens plus élevés que les autres. De fait, il apparaît que, chez les deux sexes des souches de ver à soie ayant un poids larvaire moyen au cinquième jour du cinquième stade plus faible,

des corrélations significatives du poids larvaire peuvent être établies plus facilement que chez celles qui ont un poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade comparativement plus élevé. Ceci est démontré par le fait que les valeurs "r" sont significatives (p) pour le poids de la coque chez les deux sexes de *C. nichii* et chez les mâles de NB7 et NB18 dont le poids larvaire moyen est moins élevé que chez les larves femelles de NB7 et NB18 (Tableaux I et II).

En outre, Yan (1983) a établi la forte héritabilité et la corrélation génétique entre le poids du cocon, le poids de la chrysalide et le nombre d'œufs. Oshiki et coll. (1986) ont également mis en évidence la relation entre la taille des œufs et les caractères quantitatifs. Cependant, Long et coll. (1987) ont démontré que les vers à soie possédaient une héritabilité innée en ce qui concerne les caractères du cocon qui déterminent le rendement en soie, dans lequel les valeurs moyennes et l'étendue de la variation diffèrent selon chaque caractère. De même, les données (Tableaux I et II) montrent clairement qu'il existe une variabilité en ce qui concerne la moyenne du poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade, le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids de la coque et les valeurs "r" respectives chez les deux sexes des races étudiées. Ceci aussi confirme les résultats de Legay (1961) qui, en évaluant le coefficient de variation pour le poids de la chrysalide et le poids de la coque chez les mâles et les femelles de 54 familles de *Bombyx mori*, a démontré que le comportement des deux sexes est différent suivant ces caractères. Ces coefficients de variations établis pour les caractères héréditaires peuvent être détectés uniquement au niveau de la population et le fait même que les coefficients de corrélation entre ces deux caractères peuvent varier d'une famille à l'autre et d'un sexe à l'autre semble prouver que la variation des valeurs des coefficient de corrélation pour les caractères héréditaires se déterminent génétiquement (Legay, 1961).

De ce fait, le poids du cocon, le poids de la chrysalide, le poids de la coque et la richesse soyeuse sont des caractères qui donnent des valeurs "r" variables et indépendantes par rapport au poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade chez *C. nichii*, NB7 et NB18. Le fait qu'un poids larvaire élevé au cinquième jour du cinquième stade donne des caractères économiques du cocon plus intéressants chez les races bivoltines (NB7 et NB18) que chez *C. nichii* - dont le poids larvaire est faible au cinquième jour du cinquième stade - est, pour une grande part, lié aux différences génétiques. De plus, Matsumura et coll. (1977) pensent que le taux de rétention de l'azote dans la glande séricigène est plus élevé chez les races de ver à soie à fort rendement que chez les races à faible rendement. Il est donc probable que, étant plus productives, les races NB7 et NB18 ont un poids larvaire plus élevé au cinquième jour du cinquième stade et présentent une augmentation correspondante des caractères économiques du cocon comparé à la race *C. nichii*, moins productive. Cependant, la présente étude indique également que la richesse soyeuse n'est influencée par le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade chez aucune des races étudiées.

Les droites de régression pour le poids du cocon (Fig. 1) et le poids de la chrysalide (Fig. 2) établissent la dépendance de ces caractères en terme de taux de variation du poids du cocon et du poids de la chrysalide vis-à-vis des variations du poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade. Le degré de différence, comme le montrent les droites de régression, facilite grandement la comparaison d'un tel taux de variation entre les mâles et les femelles des différentes races. La présente étude démontre clairement que le poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade influence les caractères économiques du cocon. Etant donné que le poids larvaire à ce stade est lui-même influencé par les conditions ambiantes, par exemple l'alimentation, l'environnement d'élevage, etc., les variations correspondantes des caractères du cocon sont inévitables. L'étude des corrélations et de la variabilité nous permettra donc d'appréhender le degré de dépendance génotypique des caractères économiques du cocon par rapport au poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade. De plus, les droites de régression concernant le poids du cocon (Fig. 1) et le poids de la chrysalide (Fig. 2) par rapport au poids larvaire au cinquième jour du cinquième stade nous permettra d'évaluer, à l'échelle commerciale et avec plus de précision, la productivité totale de cocons des races étudiées dans des conditions d'élevage données.

METABOLIC PROFILE OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*, TISSUES INFESTED WITH UZI FLY, *TRICHOLYGA BOMBYCIS*

G. JADHAV, V.L. KALLAPUR, S.N. HOLIHOSUR* & S.H. BHOSALE

Department of Studies in Zoology, Karnatak University, Dharwad 580003, India.

* Department of Zoology, University of Agricultural Sciences, Dharwad 580003, India.

The metabolic reserves of fat-body, haemolymph and body muscles were determined in the 5th instar silkworms infested with uzi fly maggots. The glycogen content was greatly reduced in the body muscles and, to a lesser extent, in the fat-body. The trehalose level of the fat-body and haemolymph was reduced significantly. The fat-body protein level was not affected much. The fat-body acylglycerol content demonstrated significant increase, while free fatty acid level of haemolymph was depleted considerably. The muscle acylglycerol remained unaffected. It is suggested, on the basis of these results, that the uzi fly infection causes major changes in carbohydrate and lipid contents of the silkworm.

Keywords : Metabolism, *Bombyx mori*, infection, Uzi fly, *Tricholyga bombycis*.

INTRODUCTION

There is a good number of studies concerning the physiological relationship between parasitic nematodes and their insect hosts (Cordon and Webster, 1971 ; Cordon *et al.*, 1973). Jutsum and Goldsworthy (1974) have shown that mermithid infection produces changes in the metabolic reserves as well as decrease in the flight ability of their locust host. In recent years uzi fly infection to silkworm larvae has caused considerable damage to sericultural industry in Karnataka (India). Both biological and chemical control of this pest has been suggested (Devanatham *et al.*, 1982 ; Pradipkumar *et al.*, 1985 a and b). It has been observed that uzi fly preferentially infects 4th and 5th instar silkworm larvae when they are sufficiently big in size (Jolly, 1981). The literature survey has revealed that there is no information available on the effect of uzi fly infection on the metabolic reserves of silkworms. It is proposed in the present study to investigate the effect of uzi fly infection on the metabolic reserves of different tissues of the silkworm, *B. mori*.

MATERIAL AND METHODS

The material consisted of 5th instar silkworm larvae (NB18) infested with uzi fly maggots. The uninfested silkworms of the same age were collected from the laboratory culture served as controls.

Collection of tissues

The haemolymph was collected by cutting the first proleg of the larvae. Blood was drained into the pre-chilled conical centrifuge tube. The silkworm was dissected through a mid-dorsal, longitudinal incision under ice-cold *Bombyx* saline (Yamaoka *et al.*, 1971). The fat-body from the abdominal region was removed and made free from other tissues. The tissue was blotted, weighed and used for chemical estimation. The entire worm's body tissue remained after the removal of complete fat-body,

alimentary canal and all other tissues, was used as source of body muscles. All tissues were used almost immediately for chemical determinations.

Chemical estimations

Tissue carbohydrate level was determined by the anthrone method of Roe (1955). This procedure measures anthrone positive material and, in the haemolymph, this consists primarily of trehalose although some glucose is also present. In the present study, for convenience the total anthrone positive material in total haemolymph is described as trehalose. The tissue glycogen content was determined following the precipitation of glycogen from a saturated solution of sodium sulfate with ethanol. Tissue acylglycerol was extracted with isopropanol:hexane:sulfuric acid (40:40:0.1, v/v/v) and concentration was measured by hydrolysis of the fat and subsequent conversion of glycerol to 3,5-diacetyl 1-1,3 dihydrolutidine (Geigel *et al.*, 1975). Free fatty acid (FFA) levels were determined by the established procedure of Howorth *et al.* (1966). The total lipid was determined by using mixture of chloroform:methanol (2:1, v/v). The procedure was essentially similar to that described by Folch *et al.* (1957). Protein content of tissue was determined according to Lowry *et al.* (1951).

RESULTS AND DISCUSSION

The silkworm infested with uzi fly maggots displays a clear speck on the body. The level of glycogen, trehalose and protein of the various tissues of infested and control silkworm larvae is presented in Table I. The results reveal that the glycogen in the body musculature and fat-body depleted by 63 % and 15 % respectively in the infested worms. Similarly, the trehalose level of the fat-body and haemolymph shows significant decrease. The fat-body protein in the infected worm remained almost unaffected (Table I). The results presented in Table II reveal that the fat-body of the infected silkworm shows significant increase in the acylglycerol content. By contrast, the blood FFA level indicated marked depletion ($P < 0.001$). It is interesting, however, to note that the total lipid content of the body muscles remained almost unaffected.

The data obtained in the present study are consistent with the proposal that the parasite infection directly or indirectly interferes with the metabolism of the host insect (Cordon and Webster, 1971 ; Cordon *et al.*, 1973 ; Jutsum and Goldsworthy, 1974). In the locusts, the mermithid infection produced changes in the levels of blood carbohydrates and proteins but not lipids. In the fat-body, on the other hand, all the three major fuel reserves are significantly reduced (Jutsum and Goldsworthy, 1974). Our results show that the glycogen as well as trehalose contents are reduced from fat-body, haemolymph and body muscles of the silkworms infested with uzi fly maggots. By using extensively the host blood trehalose and other carbohydrate precursors, the parasite seems to deprive the host fat-body of carbohydrate precursors required for glycogenesis. These observations suggest that carbohydrate is essential for the parasite's rapid development and for the accumulation of carbohydrate reserves required during free-living adult stage. It may be recalled in this context that the energy source for flight performance of the adult dipterans depends upon the carbohydrate store in the body.

Our data on the lipid level of the various tissues of the infested worms revealed interesting results (Table II). The FFA level of the haemolymph is decreased significantly, while fat-body acylglycerol level increases substantially ($P < .01$). It is accepted that the source of haemolymph lipid is from the fat-body. The source of additional acylglycerols that appear in the fat-body of infested silkworm may be due to rapid uptake by fat-body of the FFA that disappear from the blood. But this is not sufficient to account for the total elevation of lipid in the fat-body. Further research is required whether infection causes increased lipogenesis in the fat-body and/or the observed changes in lipid concentration necessarily reflect changes in absolute lipid content rather than moisture content of the fat-body tissue. It is of considerable interest to note that the protein content of the fat-body of the infested silkworms remained unaffected. It appears that the energy requirement of the maggot is met out of carbohydrate and lipid store of the host fat-body.

Table I. Effect of uzi fly infection on glycogen, trehalose and protein levels in different tissues of the silkworm, *Bombyx mori*.

Tableau I. Effet de l'infestation par la mouche uzi sur les contenus en glycogène, tréhalose et protéines de différents tissus chez le ver à soie *Bombyx mori*.

Tissue and carbohydrates <i>Tissus et hydrates de carbone</i>	Glycogen / trehalose level µg/100 mg wet weight tissue or µg/µl haemolymph		
	Uninfected	Infected	P. value
	Niveau de glycogène ou de tréhalose en µg/100 mg de poids frais ou en µg/µl d'hémolymph		
	Sains	Infestés	Valeur P.
Fat-body glycogen <i>Glycogène du corps adipeux</i>	9.06 ± 0.59	7.66 ± 0.52	P<0.05
Fat-body trehalose <i>Tréhalose du corps adipeux</i>	0.859 ± 0.05	0.554 ± 0.01	P<0.001
Haemolymph trehalose <i>Tréhalose de l'hémolymph</i>	13.0 ± 1.3	9.0 ± 1.0	P<0.05
Muscle glycogen <i>Glycogène des muscles</i>	1.9 ± 0.09	0.07 ± 0.07	P<0.001
Fat-body protein <i>Protéines du corps adipeux</i>	39.64 ± 15.00	31.64 ± 10.00	NS

Each value represents mean ± SEM for five determinations.

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart-type pour cinq déterminations.

Table II. Effect of uzi fly infection on the lipid reserves of the fat-body and haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.*Tableau II. Effet de l'infestation de la mouche uzi sur les réserves de lipides dans le corps adipeux et l'hémolymphe du ver à soie Bombyx mori.*

	Lipid concentration μg acylglycerol or μg free fatty acid/100 mg wet weight fat-body or μl haemolymph		
	Uninfected	Infected	P. Value
	Concentration en lipides μg d'acylglycérol ou d'acides gras libres /100 mg de poids frais de corps adipeux ou par μl d'hémolymphe		
	Sains	Infestés	Valeur P.
Fat body acylglycerol	15.5 ± 1.75	30.26 ± 2.9	P<0.01
Acylglycérol du corps adipeux			
Haemolymph free fatty acid	3.39 ± 0.12	1.2 ± 0.1	P<0.001
Acides gras libres de l'hémolymphe			
Body musculature lipid	19.00 ± 1.93	17.39 ± 2.3	P<0.05
Lipides des muscles du corps			

Each value represent mean ± SEM for five determinations.

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart-type pour cinq déterminations.

REFERENCES

- CORDON R., WEBSTER J.M. (1971), Expt. Parasitol., 40, 431-437.
 CORDON R., WEBSTER J.M., HISLOR T.G. (1973), Biochem. Physiol., 468, 575-581.
 DEVANATHAN P.H., KASTURI BAI A.R., RANGANATH V.S. (1982), Curr. Sci., 51, 1120.
 FOLCH J.M., LEES S., STANLEY C.H.S. (1957), J. Biol. Chem., 226, 479-509.
 GEIGEL J.M., HAM A.B., CLEMA W. (1975), Clin. Chem., 21, 1575-1581.
 HOWORTH P.J.H., GIBBARD S., MARKS V. (1966), Clin. Chem., Acta., 14, 69-73.
 JOLLY M.S. (1981), Uzi fly. Central Sericultural Research Institute Bulletin, Inde, 4.
 JUTSUM A.R., GOLDSWORTHY C.J. (1974), Internat. J. Parasitol., 4, 625-631.
 LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951), J. Biol. Chem., 193, 265-275.
 PRADIPKUMAR, JOLLY M., SAMSON M.V., VENKATREDDY V. (1985a), Indian J. Sericult., 24, 53-57.
 PRADIPKUMAR, VENKATREDDY V., RAMADEVI O.K., JOLLY M.S., DATTA R. (1985b), Indian J. Sericult., 24, 58-61.
 ROE J.H. (1955), J. Biol. Chem., 212, 335-338.
 YAMAOKA K., HOSHINO M., HIROA T. (1971), J. Insect Physiol., 17, 897-911.

PROFIL METABOLIQUE DES TISSUS DE *BOMBYX MORI* INFESTES PAR LA MOUCHE UZI, *TRICHOLYGA BOMBYCIS*

G. JADHAV, V.L. KALLAPUR, S.N. HOLIHOSUR* & S.H. BHOSALE

Department of Studies in Zoology, Karnatak University, Dharwad 580003, Inde.

* Department of Zoology, University of Agricultural Sciences, Dharwad 580003, Inde.

Les réserves métaboliques du corps adipeux, de l'hémolymph et des muscles ont été mesurées au cinquième âge chez les larves infestées par des asticots de la mouche Uzi. Le contenu en glycogène diminue fortement dans les muscles du corps et, dans une moindre mesure, dans le corps adipeux. Le contenu en tréhalose du corps adipeux et de l'hémolymph diminue de manière significative. Le contenu en protéines du corps adipeux n'est pratiquement pas affecté. Le contenu en acylglycérol du corps adipeux augmente très nettement, alors que le niveau d'acides gras libres de l'hémolymph est considérablement réduit. Le contenu en acylglycérol des muscles n'est pas affecté. Ces résultats laissent à penser que l'infestation par la mouche Uzi provoque des changements majeurs dans les contenus en lipides et en hydrates de carbone chez le ver à soie.

INTRODUCTION

Un grand nombre d'études ont été réalisées sur les relations physiologiques entre les nématodes parasites et leurs hôtes (Cordon et Webster, 1971 ; Cordon et coll., 1973). Justum et Goldsworthy (1974) ont démontré que l'infestation par *Mermis* produisait des variations dans les réserves métaboliques et diminuait la capacité de vol du criquet. Au cours de ces dernières années, l'infestation des larves de ver à soie par la mouche Uzi a provoqué d'importants dommages dans l'industrie séricicole du Karnataka (Inde). Il a été suggéré de faire appel à la lutte biologique et chimique contre ce parasite (Devanathan et coll., 1982 ; Pradipkumar et coll., 1985 a et b). On a remarqué que la mouche Uzi infeste de préférence les larves du quatrième et du cinquième stade lorsqu'elles atteignent une taille suffisamment grande (Jolly, 1981). La lecture de la documentation portant sur ce thème révèle qu'il n'existe aucune information sur l'effet de l'infestation par la mouche Uzi sur les réserves métaboliques du ver à soie. Le présent article se propose donc d'étudier l'effet de l'infestation par la mouche Uzi sur les réserves métaboliques de différents tissus du ver à soie *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Le matériel se compose de larves au cinquième stade (NB₁₈) infestées par des larves apodes de la mouche Uzi. Des larves saines du même stade élevées dans le laboratoire sont utilisées comme témoins.

Prélèvement des tissus :

L'hémolymph est prélevée en coupant la première fausse patte des larves. Le sang est drainé dans des tubes centrifugés coniques préalablement refroidis. Le ver à soie est disséqué par incision dorsale longitudinale dans une solution saline pour *Bombyx* dans la glace (Yamaoka et coll., 1971). Le corps adipeux de la région abdominale est retiré et séparé des autres tissus. Le tissu est buvardé

et pesé avant les dosages chimiques. Le tissu entier du corps de la larve, restant après qu'on a entièrement ôté le corps adipeux, le tube digestif et tous les autres tissus, est utilisé comme source des muscles du corps. Tous les tissus sont utilisés presque immédiatement pour les déterminations chimiques.

Dosages chimiques :

Le niveau des hydrates de carbone dans les tissus est déterminé suivant la méthode à l'anthrone de Roe (1955). Ce procédé permet de mesurer les produits positifs à l'anthrone, ce qui, dans l'hémolymph, correspond principalement au tréhalose bien qu'un peu de glucose soit également présent. Dans notre étude, par commodité, la totalité du matériel positif à l'anthrone dans l'hémolymph est décrit sous le nom de tréhalose. Le contenu en glycogène des tissus est déterminé après précipitation du glycogène à partir d'une solution éthanolique saturée en sulfate de sodium. L'acylglycérol des tissus est extrait avec de l'isopropanol : hexane : acide sulfurique (40:40:0,1, v/v/v) et sa concentration est mesurée par hydrolyse des graisses puis conversion du glycérol en 3,5 - diacétyl 1-1, dihydrolutidine (Geigel et coll., 1975). Les niveaux d'acides gras libres (FFA) sont déterminés suivant le procédé de Howorth et coll. (1966). Le contenu total en lipides est déterminé en utilisant un mélange chloroforme:méthanol (2:1, v/v). Le procédé est similaire à celui de Folch et coll. (1957). Le contenu en protéines du tissu est déterminé selon la méthode de Lowry et coll. (1951).

RESULTATS ET DISCUSSION

Le ver à soie infesté par des larves apodes de la mouche Uzi présente une tache claire sur le corps. Le niveau de glycogène, de tréhalose et de protéines dans les divers tissus des larves témoins et des larves infestées est donné dans le tableau I. Les résultats révèlent que le niveau de glycogène dans les muscles du corps et dans le corps adipeux diminuent de 63 % et 15 % respectivement chez les larves infestées. De même, le niveau de tréhalose dans le corps adipeux et dans l'hémolymph diminue nettement. Le contenu en protéines du corps adipeux chez les larves infestées n'est pratiquement pas affecté (Tableau I). Les résultats présentés dans le tableau II révèlent que le contenu en acylglycérol du corps adipeux chez les larves infestées augmente de manière significative. Inversement, le niveau en acide gras du sang se réduit énormément ($P < 0,001$). Il est toutefois intéressant de noter que le contenu total en lipides des muscles du corps n'est presque pas affecté.

Les données recueillies dans la présente étude corroborent la théorie selon laquelle l'infestation du parasite agit directement ou indirectement sur le métabolisme de l'insecte (Cordon et Webster, 1971 ; Cordon et coll., 1973 ; Jutsum et Goldsworthy, 1974). Chez les locustes, l'infestation par *Mermis* provoque des variations du niveau d'hydrates de carbone et de protéines mais pas du contenu en lipides. Par contre, dans le corps adipeux, les trois principales réserves d'énergie diminuent de façon significative (Jutsum et Goldsworthy, 1974). Nos résultats montrent que les contenus en glycogène et en tréhalose diminuent dans le corps adipeux, l'hémolymph et les muscles du corps chez les vers à soie infestés par des larves apodes de la mouche Uzi. Il semble qu'en utilisant le tréhalose et d'autres précurseurs des hydrates de carbone du sang de l'hôte, le parasite prive le corps adipeux de son hôte des précurseurs nécessaires à la glycogénèse. Ces observations suggèrent que les hydrates de carbone sont essentiels au développement rapide du parasite et à l'accumulation des réserves en hydrates de carbone requise pour le stade adulte libre. Dans ce contexte, il convient de rappeler que la source d'énergie permettant à l'adulte diptère de voler dépend du taux d'hydrates de carbone dans le corps.

Nos données concernant le contenu en lipides des divers tissus des larves infestées révèlent d'intéressants résultats (Tableau II). Le niveau d'acide gras libre de l'hémolymph diminue de manière significative, alors que le niveau d'acylglycérol du corps adipeux augmente très nettement ($P < 0,01$). Il est admis que la source des lipides de l'hémolymph se situe dans le corps adipeux. La source des acylglycérols supplémentaires qui apparaissent dans le corps adipeux des larves infestées peut provenir d'une ingestion rapide par celui-ci des acides gras libres qui disparaissent du sang. Mais ceci n'explique pas complètement l'augmentation totale du contenu en lipides du corps adipeux. Un complément de recherches permettrait de déterminer si l'infestation provoque une augmentation de la lipogénèse dans le corps adipeux et/ou si les variations observées de la concentration en lipides

reflète forcément les variations du contenu absolu en lipides plutôt que le contenu en eau du corps adipeux. Il est tout à fait intéressant de noter que le contenu en protéines du corps adipeux chez les larves infestées n'est pas affecté. Il semble que les besoins énergétiques de la larve apode soient satisfaits par les réserves en hydrates de carbone et en lipides du corps adipeux hôte.

SOME OBSERVATIONS ON MELTING IN BIVOLTINE BREEDS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

P. RAMA MOHANA RAO, M.K.R. NOAMANI & H.K. BASAVARAJ

Central Sericultural Research & Training Institute, Srirampura, Mysore 570008, India.

Keywords : Melting, bivoltine, silkworm breeds.

The environmental factors, especially temperature and humidity, play a very important role in the life history of silkworms (Rapusas and Gabriel, 1976). The number of dead pupae varies from brood to brood and its occurrence varies according to seasons. There have been some earlier attempts to study the melting behaviour by Singh and Raghuraman (1975). Possible causes for the occurrence of dead pupae are :

1. Environmental conditions —especially temperature and humidity.
2. Late larval infection.
3. Compactness of the bivoltine cocoon shell layers causing suffocation.

The bivoltine, which originally adapted to the temperate climate conditions, show better cocoon viability and increased silk output. Four bivoltine breeds have been under commercial exploitation in South India since 1970, of which two are Chinese type breeds (NB7 and KA) and the other two are Japanese type (NB18 and NB4D2).

Under laboratory conditions the occurrence of dead pupae in different breeds in NB7, NB18, NB4D2 and KA in different seasons is indicated in the graph. During summer season the temperature rises up to 31°C with a relative humidity of 61 to 72 % inside the rearing house. In the rainy season the relative humidity rises up to 90 % and with a temperature of 24°C inside the rearing house. During summer when the temperature rises, the percentage of dead pupae also increases by 10 %, the lowest percentage of dead pupae was observed during winter season when the temperature drops to 19°C and with 75 % RH. As is evident from the graph the number of dead pupae was comparatively higher in the Japanese type (NB18 and NB4D2), the percentage of melting was lower in the case of the Chinese type breeds (NB7 and KA).

As is evident from table I NB7 and KA showed lower melting and NB18 and NB4D2 showed a slightly higher melting. The cocoon output data of Anekal bivoltine seed area for the two years (1983-84 and 1984-1985) also indicated that cocoon yield for 100 dfls was higher in the Chinese type (29.3 to 31.8 kg) as compared to the Japanese type (24.2 and 28.2 kg).

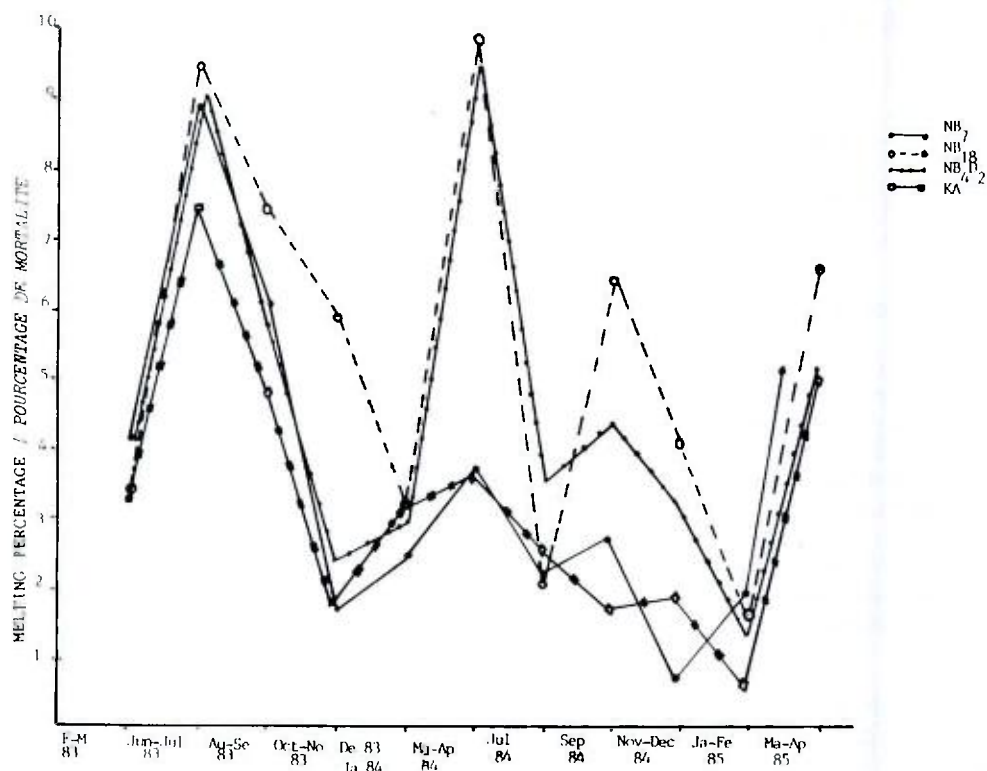


Fig. 1: Graph showing the melting percentage in approved bivoltine races in different seasons.

Fig. 1 : Graphique montrant le pourcentage de mortalité des chrysalides chez les races bivoltines homologuées suivant les différentes saisons.

Table I. Percentage of dead pupae during 1983-84 and 1984-85.

Tableau I. Pourcentage de chrysalides mortes en 1983-84 et 1984-85.

Race	Total cocoons	No. of good cocoons	No. of melted cocoons	Percentage of melting
<i>Race</i>	<i>Nombre total de cocons</i>	<i>Nombre de cocons sains</i>	<i>Nombre de cocons morts</i>	<i>Pourcentage de mortalité</i>
NB ₇	25502	24783	719	2.8
KA	26409	25655	754	2.8
NB ₁₈	26074	24741	1333	5.1
NB ₄ D ₂	25733	24622	1111	4.3

REFERENCES

- RAPUSAS H.R., GABRIEL B.P. (1976), Suitable temperature, humidity and larval density in the rearing of *Bombyx mori* L. Phil. Agr., 60, 130-138.
- SINGH K., RAGHURAMAN R. (1975), Studies on melting (pupal mortality) in silkworms. Annual Report of C.S.R. & T.I., Mysore, India.

QUELQUES OBSERVATIONS SUR LA MORTALITE DES CHRYSLIDES CHEZ DES SOUCHES BIVOLTINES DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

P. RAMA MOHANA RAO, M.K.R. NOAMANI & H.K. BASAVARAJ

Central Sericultural Research & Training Institute, Srirampura, Mysore 570008, Inde.

Les facteurs écologiques, particulièrement la température et l'humidité, jouent un rôle prépondérant dans le cycle de vie des vers à soie (Rapusas et Gabriel, 1976). Le nombre de chrysalides mortes varie suivant les pontes et les saisons. Le mécanisme de cette mortalité a déjà été étudié par Singh et Raghularaman (1975). Les causes possibles de la mort des chrysalides sont :

1. les facteurs écologiques, particulièrement la température et l'humidité ;
2. l'infection à la fin du stade larvaire ;
3. l'épaisseur des couches de la coque des cocons bivoltins qui, lorsqu'elles sont trop compactes, provoquent la suffocation.

Les bivoltins qui, à l'origine, s'adaptaient à des conditions climatiques tempérées, donnent une meilleure viabilité du cocon et un meilleur rendement en soie. Quatre souches bivoltines sont actuellement exploitées dans le sud de l'Inde depuis les années 70 ; parmi celles-ci, deux sont d'origine chinoise (NB7 et KA) et les deux autres, d'origine japonaise (NB18 et NB4D2).

Dans des conditions de laboratoire, le pourcentage de chrysalides mortes chez les différentes souches NB7, NB18, NB4D2 et KA au cours des diverses saisons est indiqué dans la figure 1. En été, la température monte jusqu'à 31°C, avec une humidité relative de 61 à 71 % à l'intérieur de la pièce d'élevage. Durant la saison des pluies, l'humidité monte jusqu'à 90 %, avec une température de 24°C à l'intérieur de la pièce d'élevage. En été, quand la température monte, le pourcentage de chrysalides mortes augmente également de 10 %. On observe que le pourcentage de chrysalides mortes le plus faible se situe en hiver lorsque la température descend à 19°C, avec une humidité relative de 75 %. Comme le montre la figure 1, le nombre de chrysalides mortes est comparativement plus élevé chez les souches japonaises (NB18 et NB4D2), le pourcentage de mortalité étant moins fort chez les souches chinoises (NB7 et KA).

Ainsi que l'indique le tableau I, NB7 et KA présente une mortalité pupale moins élevée que NB18 et NB4D2, dont la mortalité est légèrement plus forte. Les données concernant la production de cocons à partir des graines bivoltines de la région d'Anekal pour les deux années considérées (1983-84 et 1984-85) indiquent également que le rendement en cocons pour 100 dfls. est plus élevé chez les souches chinoises (29,3 à 31,8 kg) que chez les souches japonaises (24,2 à 28,2 kg).

REVUE SIGNALETIQUE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare, Bulgarian.

(D) Allemand, German.

(F) Français, French.

(K) Coréen, Korean.

(Pt) Portuguais, Portuguese.

(Ro) Roumain, Rumanian.

(C) Chinois, Chinese.

(E) Anglais, English.

(J) Japonais, Japanese.

(Pl) Polonais, Polish.

(R) Russe, Russian

(S) Espagnol, Spanish.

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

The corresponding small letters are used to indicate the language of the summary.

Mûrier

Mulberry

Correlation studies in mulberry (*Morus alba* L.).

Etude de corrélations chez le mûrier *Morus alba* L.

BARI M. A., QAIYYUM M. A., AHMED S. U.

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 11-16.

Characteristics of the soils of mulberry farm of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.

Caractéristiques des sols des mûraies du C. S. R. & T. I. de Mysore.

BASAVANNA H. M., BOSE P. C.

Lab. of Soil Sc. & Chemistry, Central Seric. Research & Training Inst. Mysore, India.

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 1-10. (E)

Effect of foliar application of fertilizer solutions on seedling growth of *Litsaea polyantha* Juss.

Effet de l'application foliaire de solutions fertilisantes sur la croissance des semis de *Litsaea polyantha* Juss.

CHANDRA SEKHAR M., THANGAVELU K.

Regional Sericultural Research Station, Salem 636 001, Tamil nadu, India.

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 111-112. (E)

Studies on culture of embryo and quick propagation of tube seedling in mulberry.

Etude sur l'élevage des embryons et la propagation rapide de jeunes plants de mûriers.

CHEN A. et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(4), 173-177. (C)

Pathogenicity and bacteriological characterization of *Xanthomonas campestris* from mulberry.

Pathogénicité et caractérisation bactériologique de *Xanthomonas campestris* chez le mûrier.

CHOI S. H., LEE K. G., CHOI Y. S., LEE E. J., KIM Y. T.

Rural Development Administration, Suwon, Agricultural Sciences Institute. Korea.

1988 Korean Journal of Plant Pathology, Vol. 4(2), 143-148. (E)

Studies on the systems of mulberry planting under rainfed condition.

Etudes des systèmes de plantations de mûriers en absence d'irrigation.

CHOUDHURY P. C., JOLLY M. S., CHANDRASEKHAR D. S., RAJANNA L. et al.

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

1987 Indian J. Seric., Vol. 26 (1), 58-59. (E)

Performance of mulberry varieties under different planting geometry.

Performance des variétés de mûriers selon la configuration de la plantation.

DAHIPHALE V.V., RAIKHEKAR S.V., UDATE M.G., SHINDE V.S.

Marathwada Agricultural Univ., Parbhani, Maharashtra, India.

1988 Journal of Maharashtra Agricultural Universities, Vol. 13(2), 139-140. (E)

Evaluation of mulberry varieties by feeding to Bombyx mori L.

Evaluation des variétés de mûriers par nourrissage de Bombyx mori L.

DAR H. U., SINGH T. P., DAS B. C.

Division of Seric., Sher-e-Kashmir Univ. of Agric. Sci. & Tech., Mirgund, Kashmir, India.

1988 Indian J. Seric., Vol. 27 (1), 16-22. (E)

Floral vasculature and trichome studies in female and colchicine induced male and abnormal flowers of mulberry variety kanva-2 (Morus Alba L).

Etudes de la vascularisation florale et du trichome chez les fleurs femelles, les fleurs mâles induites par la colchicine et les fleurs anormales des mûriers de la variété kanva-2 (Morus alba L.).

DWIVEDI N. K., SIKDAR A. K., JOLLY M. S.

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

1987 Indian J. Seric., Vol. 26 (1), 46-53. (E)

Effect of nitrogen levels on the growth and yield of mulberry.

Effet des taux d'azote sur la croissance et le rendement des mûriers.

FOTADAR R. K., CHAKRABORTY S., DARZI G. M., DHAR K. L., AHSAN M. M.

Regional Sericultural Research Station, Pampore (Kashmir), India.

1988 Indian J. Seric., Vol. 27 (1), 7-15. (E)

Investigation on the species of mulberry tree pests in Liaoning Province.

Etude sur les diverses espèces de parasites du mûrier dans la province du Liaoning.

GAO D.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 177-183. (C)

Studies on the stand structure of mulberry trees. IV. Relationships between stand structure and dry matter.

Etudes de la structure des plans de mûriers. IV. Relations entre la structure et la matière sèche.

GONG L., et al.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences. China.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(1), 1-6. (C,e)

Host range of Meloidogyne incognita causing root-knot disease in mulberry (Morus alba L.).

Liste des hôtes de Meloidogyne incognita provoquant la maladie du noeud de la racine chez le mûrier Morus alba L.

GOVINDAIAH, DANDIN S. B., MADHAVA RAO Y. R.

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

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 121-126. (E)

The breeding of mulberry tetraploids in Guangdong.

Culture de mûriers tétraploïdes dans la province de Guangdong.

GUO Z., WANG S.

Guangdong Provincial Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Inst. of Seric., China.

1989 *Guangdong Agricultural Sciences*, Vol. 1, 33-34. (C)

Studies on induction of hybrid mulberry seedlings to tetraploid plants by using colchicine.

Etude de l'induction de plantules de mûriers hybrides tétraploïdes par la colchicine.

GUO Z., et al.

The Sericultural Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 13-17. (C,e)

Present status and some problems of weed control in mulberry fields.

Situation actuelle et problème de lutte contre les mauvaises herbes dans les champs de mûriers.

HANIOKA Y.

Saitama-Ken, Sericultural Experiment Station, Kumagaya, Japan.

1987 *Weed Research*, Vol. 32 (1), 7-12. (J)

Collecting and their phenotypical and physiological traits of mulberry species, *Morus boninensis* Koidz.

Collection et caractères phénotypique et physiologique de l'espèce *Morus boninensis* Koidz.

HARASHIMA N., KOBAYASHI S.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 1, 29-38. (J)

Study on the cell genetics of *Morus* in Southwestern China. I. Observation on the chromosome numbers of *Morus*.

Etude cytogénétique chez *Morus* dans le sud-ouest de la Chine. I. Dénombrement des chromosomes chez *Morus*.

HE D., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 7-12. (C)

Studies on the bionomics and forecast of spider mites (*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval).

Etudes sur la bionomie et la prévention des acariens (*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval).

HUANG E., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 18-22. (C)

Estimation of damage caused on the mulberry tree by parasitization of the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* Pscoe (Coleoptera : Cerambycidae).

Estimation des dommages causés par le parasitisme du coléoptère longicorne à taches jaunes *Psacotha hilaris* Pscoe (Coleoptera : Cerambycidae) sur le mûrier.

IBA M., SHIOKAWA H.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 1, 63-69. (J)

Use of sex pheromone for the control of the mulberry Pyralid. I. Development velocity and female fertility.

Utilisation de la phéromone sexuelle pour lutter contre la Pyrale du Mûrier. I. Rapidité du développement et fertilité des femelles.

ISHIISHIKAWA H.

Ehimeken Seric. Experiment Station, Tokunomori 2278, Ozu, Ehime 795. Japan.

1989 *Research Report of the Ehimeken Seric. Exper. Station, Vol. 10(3), 1-4. (J)*

Use of sex pheromone for the control of the mulberry Pyralid. II. Attractiveness of virgin female trap.

Utilisation de la phéromone sexuelle pour lutter contre la Pyrale du mûrier. II. Attractivité du piège tendu avec la femelle vierge.

ISHIISHIKAWA H., OCHI A.

Ehimeken Seric. Experiment Station, Tokunomori 2278, Ozu, Ehime 795. Japan.

1989 *Research Report of the Ehimeken Seric. Experiment Station, Vol. 10(3), 5-9. (J)*

Seasonal changes in light-intercepting characteristics of mulberry fields with different densities and prunings.

Changements saisonniers des caractéristiques de la photoréception dans les mûraies en fonction des diverses densités et tailles.

ITO D., ONO M., SHIOKAWA H., OKABE T., TAKABAYASHI K.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica, Vol. 1, 39-49. (J)*

Occurence and control of mulberry rust disease in Yangchen county, Shanxi province.

Présence et lutte contre la maladie de la rouille des mûriers à Yangchen dans la province de Shanxi.

LIU K., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 160-161. (C)*

Varietal differences of nitrogen and amino acid contents in mulberry leaves.

Différences variétales du contenu en azote et en acides aminés des feuilles de mûrier.

MACHII H.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica, Vol. 1, 51-62. (J)*

Graft inoculation test for dwarf disease resistance of mulberry races.

Test d'inoculation par greffage pour évaluer la résistance à la maladie du nanisme chez les diverses races de mûrier.

NAGANUMA K., HARASHIMA N.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica, Vol. 1, 21-27. (J)*

Investigation on the relationship among yield protoplasm, enzymolysis. Time and amount of cellulose enzyme in mulberry.

Etude sur la relation entre le rendement en protoplasme et l'enzymolyse. Temps et quantité d'enzyme cellulolytique chez le mûrier.

NI G., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(3), 156-157. (C)*

Plantlet induction in culture of chopped male flower cluster of mulberry, *Morus alba* L.
 Induction de plantules dans la culture de groupes de fleurs mâles coupées chez *Morus alba* L.
 OGURE M.
 National Institute of Sericultural & Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 1989 *J. Seric. Sci. Japan*, Vol. 58(5), 433-435. (E)

Propagation of mulberry (*Morus alba*) by tissue culture of axillary bud.
 Propagation de mûriers (*Morus alba*) par culture de tissu du bourgeon axillaire.
 OIKAWA N., KOTOBUKI M.
 Iwate-ken, Sericultural Experiment Station, Mizusawa, Japan.
 1987 *Tohoku Agricultural Research*, Vol. 40, 347-348. (J)

On the hoppers (homoptera) attacking mulberry, *Morus alba* L.
 Sur les sauterelles (homoptera) parasitant les mûriers *Morus alba* L.
 REDDY D. N. R., KOTIKAL Y. K., VIJAYANDRA M.
 Department of Sericulture G. K. V. K. Campus, Bangalore 560 065, India.
 1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 107-108. (E)

A simple device for quick determination of mulberry leaf area in field.
 Procédé simple pour déterminer rapidement la surface foliaire des mûriers dans un champ.
 SHAMACHARY, JOLLY M. S.
 Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore 570-008, India.
 1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 51-54. (E)

Weed control in irrigated mulberry garden by herbicide combinations.
 Lutte contre les mauvaises herbes dans les mûraies grâce à des combinaisons d'herbicides.
 SIKDAR A. K., BHARATI A., KRISHNASWAMI S., JOLLY M.S.
 Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008, India.
 1987 *Indian J. Seric.*, Vol. 26 (1), 16-21. (E)

Studies on the constituents of hairy and non-hairy leaves of *Terminalia tomentosa* W & A.
 Etudes sur les constituants des feuilles velues et non velues de *Terminalia tomentosa* W et A.
 SINHA A. K., SINHA U. S. P., BRAHMACHARI B. N., SENGUPTA K.
 Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, India.
 1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 115-117. (E)

Comparing of Oak training methods.
 Comparaison sur les méthodes de cultures du chêne.
 SUN H., et al.
 1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 61-62. (C)

Lateral bud development and shoot growth in low-pruned *Morus alba* as affected by stem orientation.
 Développement du bourgeon latéral et croissance des scions sur les mûrier en taille basse affectés par l'orientation du tronc.
 SUZUKI T., KITANO M.
 Fac. of Textile Science, Kyoto Kogei-sen-i Univ., Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.
 1989 *Physiologia Plantarum*, Vol. 76, 493-499. (E)

Dormancy and spring development of lateral buds in mulberry (*Morus alba*).

Dormance et développement au printemps des bourgeons latéraux chez le mûrier *Morus alba*.

SUZUKI T., KITANO M.

Fac. of Textile Science, Kyoto Kogei-sen-i Univ., Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1988 Physiologia Plantarum, Vol. 75, 188-194. (E)

Lateral bud outgrowth on decapitated shoots of low-pruned mulberry (*Morus alba* L.)

Croissance du bourgeon latéral sur des scions éêtés de mûriers en taille basse (*Morus alba* L.).

SUZUKI T., KITANO M., KOHNO K.

Faculty of Textile Science, Kioto Kogei-sen-i University, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1988 Tree Physiology, Vol. 4, 53-60. (E)

Effects of pruning on the branching habit of *Morus alba* L. and the abscission of the apices of the short shoots.

Effets de la taille sur la ramification chez *Morus alba* L. et l'excision des apex des petites pousses.

SUZUKI T., KOHNO K.

Faculty of Textile Science, Kyoto Kogei-Sen-i University, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1987 New Phytol., Vol. 106, 753-758. (E)

The ionic permeability through the cellulose membrane made from mulberry xylem.

Perméabilité ionique au travers de la membrane de cellulose fabriquée à partir de xylème du mûrier.

URITA S., OTA T., SUGIURA M.

Sericultural Experiment Station, Yanagawa, Fukushima-ken, Japan.

1987 J. Seric. Sc. Jpn., Vol. 56(5), 364-368. (J,e)

Cultivation of young mulberry plants with grafting and cutting methods.

Culture de jeunes mûriers en utilisant les méthodes de greffe et de bouturage.

WANG Z.

1989 Cane Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 115-117. (C)

Correlative analysis on the stomata characters of mulberry leaf and chromosome ploidy.

Analyses corrélatives sur les caractères des stomates des feuilles de mûriers et la ploïdie.

YU M.

1989 Cane Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 238-240. (C)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie

B. mori : rearing, feeding, pathology

Double infection of two densovirus viruses in the silkworm, *Bombyx mori*.

Infection par deux virus de la denso-nucléose chez le ver à soie *Bombyx mori*.

ABE H., WATANABE H.

Tokyo Univ., Fac. of Agric., Japan.

1987 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, Vol. 31(4), 381-384. (J)

Relative performance of three pure races of mulberry silkworm.

Performance relative de trois races pures de vers à soie du mûrier.

BENDGUDE H. G., KHANVILKAR V. G., DALVI C. S.

Dept. of Agric. Entomol., Konkan Krishi Vidyapeeth, Dapoli, Dist. Ratnagiri 415 712. India.

1987 Indian J. Seric., Vol. 26 (1), 54-56. (E)

Inhibition of the accumulation of virus-specific translatable mRNA and structural polypeptides by guanidine hydrochloride in the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with infectious flacherie virus.

Inhibition de l'accumulation des ARNm traductibles et des polypeptides structuraux spécifiques du virus par la guanidine chlorhydrique dans l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori* infecté par le virus de la flacherie.

CHOI H. K., KOBAYASHI M., KAWASE S.

1989 J. Invert. Pathol., Vol. 53, 392. (E)

Septicemia occurrence in cocoons as related to silkworm rearing conditions.

Septicémie dans les cocons en fonction des conditions d'élevage des vers à soie.

ENOMOTO S., MORIYAMA H., IWANAMI S.

Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

1987 J.A.R.Q., Vol. 21(2), 117-121. (J)

Effect of insecticides on bees and silkworms.

Effet des insecticides sur les abeilles et les vers à soie.

EREMINA O. Y., ROSLAVTSEVA S. A.

1989 Agrokhimya, Vol. 5, 131-136. (R)

Viral inhibitory factor produced in the haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with a nuclear polyhedrosis virus.

Inhibiteur viral produit dans l'hémolymph du ver à soie *Bombyx mori* infecté avec le virus de la polyèdrose nucléaire.

FUNAKOSHI M., AIZAWA K.

1989 J. Invert. Pathol., Vol. 54, 151. (E)

A primary study on the resistant mechanism of silkworm to BmDNV and the viral transovarian transmission probability.

Etude sur le mécanisme de résistance du ver à soie au BmDNV et sur la probabilité de transmission transovarienne du virus.

GAO Q.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 41-44. (C)

Location of the Bombyx mori specificity domain on a Bacillus thuringiensis - endotoxin protein.

Localisation du domaine de spécificité chez Bombyx mori d'une endotoxine protéique de Bacillus thuringiensis.

GE A. Z., SHIVAROVA N. I., DEAN D.

1989 *P.N.A.S.*, Vol. 86, 4037. (E)

Effect of dietary levels of protein and pyridoxine on growth of 5th instar larvae of the silkworm, Bombyx mori.

Effet des taux alimentaires en protéines et en pyridoxine sur la croissance des larves du ver à soie Bombyx mori au 5ème âge.

HAMANO K., TSUCHIDA K.

University of Arizona, Tucson, Arizona 85721, USA.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58 (5), 380-386. (J,e)

Biosynthesis of Diels-Alder type adducts from Morus alba callus cultures.

Biosynthèse des adduits de type Diels-Alder à partir de cals de Morus alba en culture.

HANO Y., NOMURA T., UEDA S.

1988 *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu*, Vol. 30, 150-157. (J)

Evaluation of two new hybrids of silkworm, Bombyx mori L. under Egyptian conditions.

Evaluation de deux nouveaux hybrides de vers à soie Bombyx mori L. élevés en Egypte.

HOSNY A., EL-KARAKSY I. A., MOUSTAFA S.M.

Plant Protection Research Institute, Sericultural Research Section, Giza, Dokki-Egypt.

1987 *Indian J. Seric.*, Vol. 26 (1), 56-58. (E)

An electron microscopic observation of RNA from infectious flacherie virus of the silkworm, Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae).

Observation au microscope électronique de l'ARN du virus de la flacherie infectieuse du ver à soie Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae).

HU Y. Y., HASHIMOTO Y., KAWASE S.

Nagoya University, Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 23(1), 103-104. (E)

Effects of light of several wave lengths on the production of peroxide lipid in the artificial diet and the development of silkworm, Bombyx mori fed on an artificial diet.

Effets de la lumière à plusieurs longueurs d'ondes sur la production de peroxyde dans la nourriture artificielle et sur le développement du ver à soie Bombyx mori nourri avec un aliment artificiel.

IMANISHI S., KOBAYASHI J., TAKIZAWA H.

1989 *J. Seric. Sci. Japan*, Vol. 58 (5), 431-432. (J)

A new predatory insect of Bombyx mori L.

Un nouvel insecte prédateur de Bombyx mori L.

JAYASWAL K. P., MISTRI P. K.

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

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 105-106. (E)

Recent research on the infectious flacherie virus of the silkworm, Bombyx mori.

Recherche récente sur le virus de la flacherie infectieuse du ver à soie Bombyx mori.

KAWASE S., MIYAJIMA S.

Faculty of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 46401. Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 363-373. (J)

Development of the rearing technique of grown silkworm in mulberry field.

Développement de la technique de l'élevage du ver à soie adulte dans les champs de mûriers.

KOTOKU K.

Ehimeken Sericultural Experiment Station, Tokunomori 2278, Ozu, Ehime 795, Japan.

1989 *Research Report of the Ehimeken Seric. Exper. Station*, Vol. 10 (3), 10-26. (J)

Effect of fungicidal application against the white muscardine disease on the cocoon weight of the silkworm Bombyx mori.

Effet de l'application de fongicide pour lutter contre la maladie de la muscardine blanche sur le poids du cocon du ver à soie Bombyx mori.

KUBERAPPA G. C., JAYARAMAIAH M.

1988 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 22(1), 43-47. (E)

Physical control of uzifly, Tricholyga bombycis Beck and its impact on population.

Lutte par des moyens physiques contre la mouche uzi Tricholyga bombycis Beck et son impact sur la population.

KUMAR P., JOLLY M. S., SINHA S. S., SAMSON M. V., REMADEVI O. K.

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

1987 *Indian J. Seric.*, Vol. 26 (1), 5-7. (E)

Study on the effect of sucrose addition on larva of domestic silkworm.

Effet d'addition de sucrose chez la larve du ver à soie domestique.

LU J.

Department of Sericulture & Central Laboratory, Zhejiang Agricultural University, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 23-30. (C,e)

Absorption and utilization of mulberry leaf amino acids by silkworms.

Absorption et utilisation par les vers à soie des acides aminés des feuilles de mûriers.

LU S., JIANG Z.

1988 *Canye Kexue*, Vol. 14 (4), 198-204. (C)

Studies on the growth of silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) under tropical conditions.

Etude de la croissance du ver à soie *Bombyx mori* L. (Lepidoptera ; Bombycidae) dans des conditions tropicales.

MATHUR S. K., ROY A. K., SEN S. K., SUBBA RAO G.

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

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 71-79. (E)

Study on *Nosema bombycis* and *Nosema hemerophila*.

Etude sur *Nosema bombycis* et *Nosema hemerophila*.

MEI L., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (3), 135-137. (C)

A practical technique of pebrine inspection by microsporidian spore specific monoclonal antibody sensitized latex.

Technique pratique de vérification de la pébrine à l'aide du latex sensibilisé à des anticorps monoclonaux spécifiques de la spore du microsporidien.

MIKE A., OHMURA H., OHWAKI M., FUKADA T.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 392-395. (J,e)

The detection of spores of *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae) by enzyme immunoassay (EIA).

Détection de spores de *Nosema bombycis* (Microspora : Nosematidae) par titrage immuno-enzymatique (EIA).

MIYAMOTO K.

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

1989 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol. 1, 11-20. (J,e)

Nucleotide sequence of the polyhedrin gene of *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus. A strain with nuclear localization of polyhedra.

Séquence nucléotidique du gène de la polyédrine du virus de la polyédrose cytoplasmique de *Bombyx mori*. Une souche avec une localisation nucléaire des polyèdres.

MORI H., MINOBE Y., SASAKI T., KAWASE S.

1989 *J. Gen. Virol.*, Vol. 78, 1885. (E)

Effect of cobalt on silkworm growth and cocoon crop performance.

Effet du cobalt sur la croissance du ver à soie et sur la récolte de cocons.

NARASIMHA MURTHY C. V., GOVINDAPPA S.

Department of Zoology, S. V. University, Tirupati 517-502, India.

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 45-47. (E)

The investigation to prove the system of the high level sericultural farm by technique for saving labour of rearing contained leaf - harvest and cultivation qualified in the inclined mulberry fields.

Etude pour démontrer que le système des exploitations séricicoles de haut niveau permet d'économiser le travail de récolte des feuilles - récolte et culture adaptées aux champs de mûriers inclinés.

NINOMIYA K., YAMADA K., FUKUMORI S., KOTOKU K., ABE T.

Ehimeken Sericultural Experiment Station, Tokunomori 2278, Ozu, Ehime 795, Japan.

1989 *Research Report of the Ehimeken Seric. Exper. Station*, Vol. 10(3), 27-37. (J)

The influence of abnormal high temperature in the 5th instar on silkworm larvae and cocoon quality.

Influence d'une température élevée anormale au 5ème âge sur les larves de vers à soie et la qualité du cocon.

OKANO T.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1987 *Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Vol. 4, 21-24. (J)*

Note : use of paraaminobenzoic acid to improve yield of silkworm (*Bombyx mori* L.).

Note : utilisation de l'acide para-aminobenzoïque pour améliorer le rendement chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

PAI I.K., HEGDE S.N., KRISHNAMURTHY N.B.

Mysore Univ., Manasagangotri, Mysore, India.

1987 *Annals of Tropical Research (Philippines), Vol. 9(3), 178-183. (E)*

Serological diagnoses of the denisonucleosis disease of, *Bombyx mori*.

Diagnostiques sérologiques de la maladie de la denisonucléose chez *Bombyx mori*.

QIAN Y., et al.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 217-222. (C,e)*

Lethal concentration of white muscardine fungus, *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. to different races of mulberry silkworm.

Dose létale du champignon de la muscardine blanche, *Beauveria bassiana* Vuill. pour différentes races de vers à soie du mûrier.

RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M.

Department of Entomology, University of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, India.

1989 *Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 94-96. (E)*

Management of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. with powdery mildew infected leaves.

Elevage de vers à soie, *Bombyx mori* L. avec des feuilles infectées de mildiou poudreux.

RAJASHEKHARGOUDA R., DEVAIAH M. C., SIDDARAMAIAH A. L.

Dept. of Seric., College of Agric. Dharwad 580 005. Dept. Seric. Bangalore 560 065. India.

1987 *Indian J. Seric., Vol. 26 (1), 8-10. (E)*

***Archips micaceana* Walker (Tortricidae : Lepidoptera) a pest of mulberry, the sole food of *Bombyx mori* Linn.**

Archips micaceana Walker (Tortricidé: Lépidoptère), un parasite du mûrier, le seul aliment de *Bombyx mori* L.

RAJASHEKHARGOUDA R., PATIL R. H., DEVAIAH M. C.

Department of Sericulture, College of Agriculture, Dharwad 580 005, India.

1987 *Indian J. Seric., Vol. 26 (1), 60-61. (E)*

Breeding of Lantian x Baiyun, a new Summer-Autumn silkworm variety.

Elevage de Lantian x Baiyun, une nouvelle variété de vers à soie pour été-automne.

SHAO R., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 125-129. (C)*

Properties of somatic soluble antigens of *Beauveria bassiana*.

Propriétés des antigènes solubles somatiques chez *Beauveria bassiana*.

SHIMIZU S.

Kyoto Univ. of Industrial Arts and Textile Fibers, Fac. of Textile Science, Japan.

1987 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, Vol. 31(2), 121-124. (J)

Measurments of digestibility and metabolic energy of artificial diets of the silkworm, *Bombyx mori*.

Mesures de digestibilité et énergie métabolique des aliments artificiels du ver à soie *Bombyx mori*.

SHIMOGORI Y., URANO M.

Nihon Nosan Kogyo Co. Ltd., Yokohama. Japan.

1987 Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 56(4), 330-337. (J)

Constituents of the cultivated mulberry tree XL. The structure of sanggenone Q, a new Diels-Alder type adduct from *Morus mongolica* Schneider.

Composants du mûrier cultivé XL. La structure de lasanggenone Q, un nouvel adduit de type Diels-Alder de *Morus mongolica* Schneider.

SUN J. Y., HANO Y., NOMURA T.

1989 Heterocycles, Vol. 29 (1), 195-202. (E)

Growth studies in parental stocks of silkworm *Bombyx mori* L. under tropical conditions.

Etudes sur la croissance des souches parentales du ver à soie *Bombyx mori* L. dans des conditions tropicales.

VENUGOPALA PILLAI S.

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

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 53-66. (E)

Growth studies in silkworm *Bombyx mori* L. under tropical conditions. VI. An assessment on the fecundity of silkworm breeds in relation to their growth.

Etudes sur la croissance du ver à soie *Bombyx mori* L. dans des conditions tropicales. VI. Evaluation de la fécondité des races de vers à soie en fonction de leur croissance.

VENUGOPALA PILLAI S., KRISHNASWAMI S.

Regional Sericultural Research Station, Coonoor 643 101, India.

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 44-52. (E)

Growth studies in silkworm, *Bombyx mori* L. under tropical conditions. V. An evaluation on the growth rate and cocoon crop results of silkworm, under rainfed conditions.

Etudes sur la croissance du ver à soie *Bombyx mori* L. dans des conditions tropicales. V. Evaluation du taux de croissance et de la récolte de cocons en absence d'irrigation .

VENUGOPALA PILLAI S., KRISHNASWAMI S.

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

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 32-43. (E)

Growth studies in silkworm, *Bombyx mori* (L) under tropical conditions. II. Influence of agronomical methods of mulberry on the growth, cocoon crop and fecundity of silkworm.

Études sur la croissance des vers à soie, *Bombyx mori* (L), dans les conditions tropicales. II. Influence des méthodes culturales appliquées au murier sur la croissance, la récolte de cocons et la fécondité des vers à soie.

VENUGOPALA PILLAI S., KRISHNASWAMI S., KASIVISWANATHAN K.

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

1987 *Indian J. Seric.*, Vol. 26 (1), 32-45. (E)

Comparative study on resistance -NPV of the silkworm fed with mulberry leaves or artificial diets.

Étude comparée sur la résistance au NPV du ver à soie nourri avec des feuilles de mûrier ou des aliments artificiels.

WANG Y.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (4), 227-230. (C)

Comparative susceptibilities to a nuclear polyhedrosis virus in the silkworm, *Bombyx mori*, reared on mulberry leaves and artificial diets.

Sensibilités comparées au virus de la polyédrose nucléaire chez le ver à soie *Bombyx mori* élevé sur des feuilles de mûriers et sur aliment artificiel.

WATANABE H., WANG Y-X., NAGATA M.

Faculty of Agricultural Sciences, Univ. of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 407-417. (J,e)

Application of the feed ingredients for livestock to an artificial diet by using polyphagous strain of the silkworm.

Utilisation d'ingrédients de nourriture pour le bétail dans l'alimentation artificielle de la souche polyphage du ver à soie.

YANAGAWA H-A., WATANABE K., NAKAMURA M.

National Institute of Sericultural & Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 401-406. (J)

Inactivation of tobacco mosaic virus by the digestive fluid obtained from larvae of *Bombyx mori* L. and *Philosamia cynthia ricini* D.

Inactivation de la mosaïque du tabac avec le suc digestif des larves de *Bombyx mori* L. et de *Philosamia cynthia ricini* D.

YOSHIZAKI T., KATSUNO S.

Hokkaido University of Education, Sapporo, Japan.

1987 *Journal of Hokkaido Univ. of Education. Section 2-B*, Vol. 38(I), 37-45. (J)

Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Development and reproduction of *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera : Gelechiidae) on its preferred hosts.

Développement et reproduction chez *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera : Gelechiidae) sur ses hôtes préférés

AL-NAJAR S.J.T.

Baghdad Univ., Baghdad Coll. of Agriculture, Iraq.

1985 *Thesis M. Sc. in Entomology, Baghdad*, 87 p. (Ar)

Studies on the life-cycle of castor butterfly, *Ergolis merione* (Lepidoptera : Nymphalidae), a pest of castor plant (*Ricinus communis*).

Etude du cycle vital du papillon du ricin *Ergolis merione* (Lepidoptera : Nymphalidae), un parasite du ricin (*Ricinus communis*).

ASHOK P.

Dept. of Seric., Bihar Institute of Silk & Textiles, Nathnagar, Bhagalpur 812-006, India.

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 55-57. (E)

Application of the microsporidian *Nosema* sp. to biological protection of oak forests from the gypsy moth, *Lymantria dispar* L.

Application de *Nosema* sp. pour la protection biologique des forêts de chênes contre le papillon gypsy *Lymantria dispar* L.

DAVID L., MIRCHEV P., PILARSKA D.

Inst. of Entomol. Czechoslovak Ac. of Sci., Branisovska 31, 37005, Csechoslovakia.

1989 *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 86(4), 269-274. (E)

Amino acids in the leaves of secondary food plants of tasar silkworm *Antheraea mylitta* D.

Acides aminés chez les feuilles des plantes nourricières secondaires du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D.

GOEL R. K., SINHA A. K., SENGUPTA K.

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

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27(1), 38-39. (E)

Quantitative changes in the faecal ingredients of eri silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval during different instars.

Changements quantitatifs dans les constituants fécaux du ver à soie *Samia cynthia ricini* Boisduval aux différents âges larvaires.

GOVINDAN R., VENKATAGIRIYAPPA S., NARAYANASWAMY T. K.

Dept. of Seric., University of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 127-129. (E)

Effect of four supplementary components on the biology and silk yield of the silkworm, *Philosamia ricini* (Boisd) fed on semi-artificial diet (Egypt).

Effet de quatre composants supplémentaires sur la biologie et le rendement en soie du ver à soie *Philosamia ricini* (Boisd) nourri sur aliment semi-artificiel (Egypte).

HOSNY A., MARILY F. M., MEGALLA A. H.

Ministry of Agriculture, Cairo, Plant Protection Research Institute, Egypt.

1986 *Annals of Agric. Science, Zagazig Univ.*, Vol. 24 (2), 1137-1146. (E)

Study on the quantitative nutritional approach of the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai* Guérin-Ménéville.

Etude sur l'approche nutritionnelle quantitative du ver à soie du chêne japonais *Antheraea yamamai* Guérin-Ménéville.

HU C., et al.

Department of Plant Protection, Zhejiang Agricultural University, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (4), 212-216. (C,e)

Yield increasing test of monovoltine Tussah silkworm reared in autumn.

Test d'augmentation du rendement chez le ver à soie Tussah monovoltin élevé en automne.

JIANG C., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 49-52. (C)

Relation between the hibernation temperature and the fertility of male pupae of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi* Guérin (Lepidoptera : Saturniidae).

Rapport entre la température d'hibernation et la fertilité des chrysalides mâles du ver à soie du chêne chinois, *Antheraea pernyi* Guérin (Lepidoptera : Saturniidae).

KATSUNO S., NAKAJIMA F.

Hokkaido Univ., Faculty of Agriculture, Sapporo, Japan.

1987 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 22(1), 105-107. (E)

The culture of pupal ovary cell of *Attacus ricini* in vitro and infection experiment to virus.

Culture in vitro de cellules ovariennes de chrysalides d'*Attacus ricini* et test d'infection au virus.

PU Q., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 56-57. (C)

Studies on the life-history of amatid moth, *Amata passalis* Fb. (Lepidoptera : Nymphalidae), a defoliator of mulberry.

Etudes sur l'histoire du papillon, *Amata passalis* Fb. (Lepidoptera : Nymphalidae) un défoliateur mûrier.

RAJASEKHARA GOUDA R., DEVAIAH M. C.

Department of Entomology, College of Agriculture, Dharwad 580-005, India.

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 23-26. (E)

On the occurrence of variable number of ovarioles in eri moth *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae).

Sur la présence d'un nombre variable d'ovarioles chez le papillon eri *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae).

REDDY D. N. R., KOTIKAL Y. K., NAGALAKSHMAMMA K.

Dept. of Sericulture, College of Agriculture, UAS, G.K.V.K, Bangalore 560 065, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 109-110. (E)

Evaluation of some insecticides for control of gall insects (Homoptera : Psyllidae) of tasar food plants.

Evaluation de quelques insecticides pour lutter contre les insectes nuisibles (Homoptères: Psyllidés) des plantes nouricières du tussa.

SINGH R. N., MANDAL K. C., CHOWDHARY C.C., NIGAM M. P., SENGUPTA K.

Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi. India. & C.S.R.T.I., Mysore, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 90-93. (E)

Thermal acclimation induced changes in the biochemical composition of cocoon shell of eri-silkworm *Philosamia ricini*.

L'acclimation thermique provoque des transformations de la composition biochimique du cocon du ver à soie eri *Philosamia ricini*.

SINGH S. P., SINGH O. P.

1988 *J. Environ. Biol.*, Vol. 9 (3 suppl.), 289-293. (E)

Studies on the larval and pupal cuticles of temperate tasar silkworm *Antheraea proley* J.

Etudes sur les cuticules larvaires et nymphales du ver à soie tasar des régions tempérées *Antheraea proley* J.

SINHA A. K., GOEL R. K., SINHA U. S. P., SENGUPTA K.

Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi. C. S. R. T. I. Mysore 570 008, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 86-89. (E)

Studies on the larval cuticles of muga silkworm *Antheraea assama* Westwood.

Etudes des cuticules larvaires du ver à soie muga *Antheraea assama* Westwood.

SINHA A. K., SINHA U. S. P., SENGUPTA K.

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

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 103-104. (E)

Role of the exoprotease InA in the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* in pupae of *Hyalophora cecropia*.

Rôle de l'exoprotéase InA dans la pathogénicité de *Bacillus thuringiensis* chez les chrysalides de *Hyalophora cecropia*.

STEINER H.

1985 *Journal of invertebrate pathology*, Vol. 46(3), 346-347. (E)

The specificity of *Diadromus pulchellus* (Hymenoptera : Ichneumonidae) towards its host *Acrolepiopsis assectella*, the leek moth (cocoon, nymph, labial gland).

La spécificité de *Diadromus pulchellus* (Hymenoptère : Ichneumonidae) vis-à-vis de son hôte *Acrolepiopsis assectella*, la teigne du poireau (cocon, chrysalide, glandes labiales).

THIBOUT E.

Université de Tours, Institut de Biocénologie Expérimentale des Agrosystèmes, France.

1988 *Entomophaga*, Vol. 33(4), 439-452. (F)

Reasons and complex controlling method to the degeneration of Tussah silkworm rearing yard.

Causes de la dégénérescence de l'élevage du ver à soie Tussah et méthode de lutte.

WU Z.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 53-55. (C)

Preliminary study on the larval space distribution in Epimyia sp.

Etude préliminaire sur la distribution spatiale des larves chez Epimyia sp.

ZHAN S., et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol.15(3), 157-159. (C)

A priliminary study on nuclear polyhedrosis virus of japanese tussah silkworm. I. Isolation of the virus and determination of biological activity.

Etude préliminaire sur le virus de la polyédrose nucléaire du ver à soie tussah japonais. I. Isolement du virus et détermination de l'activité biologique.

ZHANG X., et al.

Helongjiang Sericultural Research Institute, China.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 170-172. (C,e)

Vers à soie : génétique

Silkworms : genetics

Investigation on the genetics of the pigmented and non-diapausing eggs of a local silkworm race in Madagascar.

Recherche sur la génétique des oeufs pigmentés et non diapausant d'une race locale de vers à soie à Madagascar.

BAO J.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (4), 184-188 (C)

Studies on the reciprocal crosses of multivoltine and bivoltine breeds in silkworm *Bombyx mori* L. with special reference to the use of bivoltine hybrid as a parent.

Etudes sur les croisements réciproques des races polyvoltines et bivoltines chez le ver à soie *Bombyx mori* L. en utilisant plus particulièrement l'hybride bivoltin comme parent.

BENCHAMIN K. V., JOLLY M. S., BENJAMIN D. A. I.

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

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 27-34. (E)

Breeding-genetic evaluation of some white cocoon races of the silkworm (*Bombyx mori* L.). II. Manifestation of heterosis and inheritance of quantitative traits.

Evaluation génétique de certaines races de vers à soie *Bombyx mori* L. à cocons blancs. II- Manifestation de l'hétérosis et hérédité des caractères quantitatifs.

GREKOV D., PETROV N.

Higher Agrarian Institute "Vasil Kolarov", Plovdiv, Bulgaria.

1989 *Animal Science*, Vol. 26 (6), 107 (B,e)

Studies on fluorine-resistant heredity in domestic silkworm. I. Analysis of hybrid vigor and combining ability.

Etudes sur l'hérédité de la résistance à la fluorine chez le ver à soie domestique. I. Analyse de la vigueur hybride et de la capacité combinatoire.

LIN J.

Department of Sericulture, South China Agricultural University, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 31-36. (C,e)

The genetic nature of known mutants in the domesticated mulberry silkworm, *Bombyx mori*.

Nature génétique des mutants connus chez le ver à soie du mûrier domestiqué *Bombyx mori*.

MURAKAMI A.

1988 *National Institute of Genetics Jpn., Annual Report*, Vol. 39, 71-73. (E)

Genetic studies on the silkworm adult lifespan (a). Heredity of the short adult lifespan (sdi).

Etudes génétiques sur la longévité du ver à soie adulte (a). Hérédité de la courte durée de vie chez l'adulte (sdi).

MURAKAMI A.

Nat. Inst. of Genetics, Lab of Phenogenetics, Dept. of Ontogenetics, Shizuoka-ken, Japan.

1989 *National Institute of Genetics, Annual Report*, Vol. 39, 67-69. (E)

Genetic studies on the silkworm adult lifespan (b). A biological characteristic of the Daizo (sdi) strain.

Etudes génétiques sur la longévité du ver à soie adulte (b). Caractéristique biologique de la souche Daizo (sdi).

MURAKAMI A.

Nat. Inst. of Genetics, Lab. of Phenogenetics, Dept. of Ontogenetics, Shizuoka-ken, Japan.

1988 National Institute of Genetics Jpn, Annual report, Vol. 39, 69-70. (E)

Genetic studies on the silkworm adult lifespan (c). Sex differences and their biological significance.

Etudes génétiques sur la longévité du ver à soie adulte (c). Différences sexuelles et leur signification biologique.

MURAKAMI A.

1988 National Institute of Genetics Jpn., Annual Report, Vol. 39, 70-71. (E)

A predictive model for F1 measure of domestic silkworm. II. Genetic significance of the model.

Modèle prédictif pour l'évaluation des F1 chez le ver à soie domestique. II. Signification génétique du modèle.

PAN S., et al.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 130-134. (C,e)

Heterosis studies for some quantitative traits in silkworm Bombyx mori L.

Etude de l'hétérosis pour certains traits quantitatifs chez le ver à soie Bombyx mori L.

SATENAHALLI S. B., GOVINDAN R., GOUD J. V.

Department of Seric., College of Agric., Univ. of Agricultural Sc., Dharwad 580 005, India.

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 100-102. (E)

Studies on green cocoon parameters of the cross breeds PM x NB7 and PM x NB18.

Etudes sur les paramètres des cocons verts obtenus dans les croisements PM x NB7 et PM x NB18.

VENKATAGIRIYAPPA S., DEVAIAH M. C., VISWESWARA GOWDA B. L.

Dept. of Sericulture, Univ. of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1989 Indian J. Seric., 28 (1), 113-114. (E)

Analysis of the genetic mechanisms and effect in weight of eggs produced of silkworm (Bombyx mori L.)

Analyse des mécanismes génétiques et leurs effets sur le poids des oeufs de vers à soie produits.

XU W., et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(1), 37-40. (C)

Fuzzy comprehensive evaluation of F1 hybrid in the silkworm, Bombyx mori.

Evaluation précise de l'hybride F1 chez le ver à soie Bombyx mori.

ZHUANG D., et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 189-195. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Changes of ecdysteroid levels of Bombyx larvae after JH and ecdysterone treatments.

Changements des taux d'ecdystéroïdes chez les larves de Bombyx après traitements à la JH et à l'ecdystérone.

AKAI H., KOBAYASHI J., TAKABAYASHI K., CHIDA I.

National Institute of Sericultural & Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Japan*, Vol. 58(5), 436-438. (E)

Juvenile hormone levels in Bombyx larvae and their impairment after treatment with an imidazole derivative KK-42.

Taux d'hormone juvénile dans les larves de Bombyx et leur altération après traitement avec un dérivé d'imidazole KK-42.

AKAI H., REMBOLD H.

1989 *Zool. Sci.*, Vol. 6(3), 615-618. (E)

Discrete localization of distinct alkaline phosphatase isozymes in the cell surface of silkworm midgut epithelium.

Localisation ponctuelle de diverses isozymes de la phosphatase alcaline à la surface de la cellule épithéliale de l'intestin du ver à soie.

AZUMA M., EGUCHI M.

1989 *J. Exph. Zool.*, Vol. 251, 108. (E)

Pyloric chamber of silkworm Bombyx mori L. I. A histological study during the course of larval development.

Chambre pylorique du ver à soie Bombyx mori L. I. Une étude histologique au cours du développement larvaire.

BARMAN A. C.

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 35-37. (E)

Role of amino acids in silkworm, Bombyx mori L., nutrition and their occurrence in haemolymph, silk gland and silk cocoons - a review.

Rôle des acides aminés chez le ver à soie Bombyx mori L.; absorption et présence dans l'hémolymphe, la glande séricigène et les cocons - revue.

BOSE P. C., MAJUMDER S. K., SENGUPTA K.

Lab. of Soil Sc. & Chem., Central Seric. Research & Training Inst., Mysore 570008 India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 17-31. (E)

Molecular mechanisms of adaptation to hyperthermia in higher organisms. III. Effect of heat shock on cells of the silkworm, *Bombyx mori*, infected by nuclear polyhedrosis virus.

Mécanismes moléculaires de l'adaptation à l'hyperthermie chez les organismes supérieurs. III. Effet des chocs thermiques sur les cellules du ver à soie *Bombyx mori*, infecté par le virus de la polyhédrose nucléaire.

BROUDE-ZBLOTAREVA T. Y., TITARENKO E. A., UL'MASOV K. A., et al.

1988 *Molecular Biology*, Vol. 22, 909. (E)

Purification and properties of alpha-glutamyl transpeptidase from the midgut of *Bombyx mori*.

Purification et propriétés de l'alpha-glutamyl-transpeptidase de l'intestin moyen de *Bombyx mori*.

CHEN Y., XU T.

1988 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 20 (6), 555-561. (C)

The effect of ascorbic acid on silkworm, *Bombyx mori* L. (Egypt).

Effet de l'acide ascorbique sur le ver à soie *Bombyx mori* L. (Égypte).

EL-KARAKSY I. A., KOTBY F. A., MOHANNA N. F.

Agricultural Research Center, El-Sabahia, Alexandria, Egypt.

1985 *Alexandria J. of Agricultural Research*, Vol. 30(2), 1023-1030. (E)

Structure of the gene for the arylphorin-type storage protein SP2 of *Bombyx mori*.

Structure du gène de la protéine SP2 de stockage de type arylphorine chez *Bombyx mori*.

FUJI T., SAKURAI H., IZUMI S.

1989 *J. Biol. Chem.*, Vol. 264, 11020. (E)

Purification and characterization of a novel chymotrypsin inhibitor controlled by the chymotrypsin inhibitor A(Ict-A) gene from the larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation, à partir de l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori*, d'un nouvel inhibiteur de la chymotrypsine contrôlé par le gène de l'inhibiteur de chymotrypsine A(Ict-A).

FUJII H., ARATAKE H., RONG D. L.

1989 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 94, 149. (E)

Mechanisms of the conversion of fucosterol epoxide into demosterol in insects. Stereochemical fate of the diastereotopic C-26 and C-27 methyl groups of the epoxide.

Les mécanismes de transformation de l'époxide fucostérol en démostérol chez les insectes. Destinée stéréochimique des groupes diastéréotopiques C-26 et C-27 de l'époxide.

FUJIMOTO Y., KAKINUMA K., IKUINA Y.

1989 *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, Vol. 8, 464-466. (E)

Studies on the lipid contents in the moths of tasar silkworm *Antheraea mylitta* D.

Études sur le contenu en lipides chez les papillons du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D.

GOEL R. K., SINHA A. K., SENGUPTA K.

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

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 40-41. (E)

Quantitative analysis of temperature, moisture, and diet factors affecting insect development.
Analyse quantitative de la température, de l'humidité et de l'alimentation affectant le développement des insectes.

HAGSTRUM D. W., MILLIKEN G. A.

1988 *Annals of the Entomological Society of America*, Vol. 81(4), 539-546. (E)

Production of functional S-II in Bombyx mori cells.

Production d'une S-II fonctionnelle dans les cellules de Bombyx mori.

HIRASHIMA S., HORIKOSHI N., SEKIMIZU K., NATORI S.

1989 *Biochemical and biophysical research communications, USA*, Vol. 160, 1093-1099. E

Comparison of the property of a novel isozyme E (formerly null mutant, O) with other isozymes of haemolymph acid phosphatase of the silkworm.

Comparaison entre la propriété d'une nouvelle isozyme E (auparavant mutant nul, O) et celle d'autres isozymes de la phosphatase acide de l'hémolymph du ver à soie.

HORII S., EGUCHI M.

1988 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 93, 443. (E)

Steroid metabolizing enzymes in the testis of diapausing and adult tasar silkworm, Antheraea mylitta - a histochemical study.

Enzymes du métabolisme des stéroïdes dans les testicules du ver à soie tussah diapausant et de l'adulte Antheraea mylitta - étude histochimique.

HURKADLI H. K., HOOLI M. A.

1988 *Proc. Indian Natl. Sci. Acad Part B.*, Vol. 54 (5), 321-325. (E)

Recombinant baculoviruses as vectors for identifying proteins encoded by intron-containing members of complex multigene families.

Baculovirus recombinants comme vecteurs pour identifier les protéines codées par les membres des familles multigènes complexes contenant des introns.

IATROU K., MEIDINGER R. G., GOLDSMITH M. R.

Dept. of Medical Biochemistry, Fac. of Medicine, the Univ. of Calgary, AB, Canada T2N4N1.

1989 *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 86, 9129-9133. (E)

Characterization of a new continuous cell line from silkworm (Bombyx mori) embryos.

Caractérisation d'une nouvelle lignée cellulaire continue de ver à soie Bombyx mori.

INOUE H., MITSUHASHI J.

Sericultural Experiment Station, Tsukuba, Ibaraki-ken, Japan.

1988 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 23 (1), 8-14. (E)

Prothoracicotropic hormone (PTTH) of the silkworm, Bombyx mori : 4K-PTTH.

Hormone prothoracicotrope (PTTH) du papillon Bombyx mori : 4K-PTTH.

ISHIZAKI H., MIZOGUCHI A., HATTA M., SUZUKI A. et al.

1987 *UCLA Symposia on molecular and cellular biology (USA)*, 49 p., 119-128. (E)

Transduction processes in olfactory receptors of moths.

Processus de transduction dans les récepteurs olfactifs des papillons.

KAISLING K. E.

1987 *UCLA Symposia on molecular and cellular biology (USA)*, Vol. 49, 33-43. (E)

Isolation and partial characterization of a prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et caractérisation partielle d'une hormone prothoracicotrope du ver à soie *Bombyx mori*.

KATAOKA H., NAGASAWA H., ISOGAI A., TAMURA S., SUZUKI C. et al.

Tokyo Univ., Faculty of Agriculture, Tokyo, Japan.

1987 *Agricultural and Biological Chemistry*, Vol. 51(4), 1067-1076. (E)

Purification, characterization and synthesis of vitellin from the cabbage butterfly *Pieris rapae* L.

Purification, caractérisation et synthèse de la vitelline du papillon du chou *Pieris rapae* L.

KIM H. R., KO Y. G., MAYER R. T.

1988 *Archives of insect biochemistry and physiology*, Vol. 9(1), 67-79. (E)

Amino acid sequence of pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN) of the silkworm, *Bombyx mori*.

Séquence d'acides aminés du neuropeptide activant la biosynthèse de phéromone (PBAN) chez le ver à soie *Bombyx mori*.

KITAMURA A., NAGASAWA H., KATAOKA H., INOUE T., MATSUMOTO S., et al.

1989 *B.B.R.C.*, Vol. 16(3), 520. (E)

Appearance of chitinolytic enzymes in integument of *Bombyx mori* during the larval-pupal transformation. Evidence for zymogenic forms.

Apparition d'enzymes chitinolytiques dans le tégument de *Bombyx mori* au cours de la transformation larvo-nymphale. Existence de plusieurs formes zymogènes.

KOGA D., FUJIMOTO H., FUNAKOSHI T. et al.

1989 *Insect biochemistry, USA*, Vol. 19, 123-128. (E)

N-beta-alanyldopamine levels and synthesis in integument and other tissues of *Manduca sexta* (L.) during the larval-pupal transformation.

Synthèse et taux de la N-bêta-alanyldopamine dans le tégument et d'autres tissus de *Manduca sexta* L. au cours de la transformation larvo-nymphale.

KRUEGER R. A., KRAMER K.J., HOPKINS T.L., SPEIRS R. D.

1989 *Insect Biochemistry, USA*, Vol. 19, 169-175. (E)

Research on developmental changes in the hemolymph concentrations of major plasma proteins in the domestic silkworm and comparing with the other silkworms.

Recherche sur les variations des concentrations des protéines plasmatiques majeures de l'hémolymphe chez le ver à soie domestique et comparaison avec les autres vers à soie.

LI F., et al.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (3), 139-143. (C,e)

Secretion of ecdysteroid by sheaths of testes of the gypsy moth, *Lymantria dispar*, and its regulation by testis ecdysiotropin.

Sécrétion d'ectystéroïdes par l'enveloppe des testicules du papillon gypsy, *Lymantria dispar*, et sa régulation par l'ecdysiotropine des testicules.

LOEB M. J., BRANDT E. P., WOODS C. W. et al.

1988 *Journal of experimental zoology*, Vol. 248 (1), 94-100. (E)

Logistic curve in the period of development of the silkworm larvae.

Courbe logistique de la période de développement des larves de vers à soie.

LU S., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (4), 223-224. (C)

Role of cholesterol 10-methyl group and effect of "Extra" 14-methyl group on silkworm growth and development.

Rôle du groupement 10-méthyl du cholestérol et effet du groupement "Extra" 14-méthyl sur la croissance et le développement du ver à soie.

MAMIYA M., TAKAHASHI K., EGUCHI S., MORISAKI M.

1989 *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 37, 1930. (E)

Effect of several factors on the alkaline phosphatase in the midgut of silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de plusieurs facteurs sur la phosphatase alcaline dans l'intestin du ver à soie *Bombyx mori*.

MIAO Y.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (4), 207-211. (C,e)

Immediate and latent effects of carbon dioxide on insects.

Effets immédiats et latents du dioxyde de carbone sur les insectes.

NICOLAS G., SILLANS D.

Lab. de Biol. de l'Insecte, Univ. Paris-Sud, Bt 440-443, 91405 Orsay Cedex, France.

1989 *Ann. Rev. Entomol.*, Vol. 34, 97-116. (E)

Functional morphology of the glandula prostatica, ejaculatory valve, and ductus ejaculatorius of the silkworm, *Bombyx mori*.

Morphologie fonctionnelle de la glandula prostatica, de la valve et du conduit éjaculateurs chez le ver à soie *Bombyx mori*.

OSANAI M., KASUGA H., AIGAKI T.

Dept. of Biol., Tokyo Inst. of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, 173 Tokyo, Japan.

1988 *Journal of morphology*, Vol. 198, 231-241. (E)

Isolation of eupyrene sperm bundles and apyrene spermatozoa from seminal fluid of the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement des faisceaux de sperme eupyrene et des spermatozoïdes apyrene à partir du liquide séminal chez le papillon *Bombyx mori*.

OSANAI M., KASUGA H., AIGAKI T.

Dept. of Biol. Metrop. Inst. of Gerontology, 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan.

1989 *J. Insect Physiol.*, Vol. 35(5), 401-408. (E)

Induction of motility of apyrene spermatozoa and dissociation of eupyrene sperm bundles of the silkworm, *Bombyx mori*, by initiatorin and trypsin.

Induction de la mobilité des spermatozoïdes apyrènes et dissociation des faisceaux de sperme eupyrenes du papillon *Bombyx mori* par l'initiatorine et la trypsine.

OSANAI M., KASUGA H., AIGAKI T.

Dept. of Biol., Metrop. Inst. of Geront., 35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan.

1989 *Invertebrate Reproduction and Development*, Vol. 15(2), 97-103. (E)

Arginine degradation cascade in the spermatophore of the silkworm, *Bombyx mori*. A new energy-supplying system for spermatozoa maturation and the role of spermatozoa.

Cascade de dégradation de l'arginine chez le spermatophore du papillon *Bombyx mori*. Nouveau système d'approvisionnement en énergie pour la maturation des spermatozoïdes et rôle des spermatozoïdes.

OZANAI M.

Dept. of Biol., Metropolitan Inst. of Geront., Sakaecho 35-2, Itabashiku, 173 Tokyo, Japan.

1987 *Regulation of insect reproduction IV.*, 73-84. (E)

Cellulolytic activity in a phytophagous lepidopteran insect *Philosamia ricini* : the origin of enzymes.

Activité cellulolitique chez un insecte lépidoptère phytophage *Philosamia ricini* : l'origine des enzymes.

PANT R., RAMANA D.

1989 *Insect. Biochem.*, Vol. 19, 269. (E)

Diapause-initiation stage and changes in proteins of the fall webworm (*Hyphantria cunea* Drury) pupae.

Début de diapause et changements des protéines des nymphes du ver tisseur (*Hyphantria cunea* Drury).

PARK N.J., BOO K. S.

Seoul National Univ., Suwon Coll. of Agriculture, Korea.

1988 *Korean Journal of Applied Entomology*, Vol. 27 (1), 6-13. (E)

Chemical studies of pheromone catabolism and reception.

Etudes chimiques du catabolisme et de la réception de la phéromone.

PRESTWICH G.D., VOGT R.G., DING Y.S.

1987 *UCLA Symposia on molecular and cellular biology*, Vol. 49, 57-66. (E)

Juvenile hormone inhibit ecdysone secretion and responsiveness to prothoracicotropic hormone in prothoracic glands of *Bombyx mori*.

L'hormone juvénile inhibe la sécrétion d'ecdysone et la réponse à l'hormone prothoracicotrope dans les glandes prothoraciques de *Bombyx mori*.

SAKURAI S., OKUDA M., OHTAKI T.

1989 *Gen. Comp. Endocrin.*, Vol. 75, 222. (E)

Physiological and biochemical studies on the adult haemolymph proteins in Lepidoptera. 1. Appearance of adult specific proteins in the haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes physiologique et biochimique des protéines de l'adulte dans l'hémolymphe chez les lépidoptères. 1. Apparition des protéines spécifiques adultes dans l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori*.

SEONG S.I., MOON J.Y., YOON H.J.

Suwon Coll., Suwon Dept. of Biology, Seoul National Univ., Coll. of Agric., Suwon, Korea.

1988 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 30(1), 20-24. (K)

Relationship between induction of trimolters and anti-juvenoid concentration in diets.
Rapport entre l'induction de trimolters et la concentration d'anti-juvénoides dans les aliments.
SHIMIZU O., KIUCHI M., AKAI H.
Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.
1987 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Vol. 4, 37-42. (J)

Changes in citrate levels in the larval and pupal tissues of *Antheraea Proley J.*
Variations des taux de citrate chez les tissus larvaires et nymphaux d'*Antheraea Proley J.*
SINHA A. K. et al.
Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 5, India.
1988 Indian J. Seric, Vol. 27 (1), 60-61. (E)

Study on the juvenile hormone binding protein in the haemolymph of the silkworm larva, *Bombyx mori*.
Etude sur la protéine de fixation de l'hormone juvénile dans l'hémolymph de la larve du ver à soie
Bombyx mori.
SOHN H. D.
Donga Univ., Seoul, Coll. of Agric., Korea.
1988 Korean Journal of Sericultural Science, Vol. 30 (1), 25-32. (K)

Bioorganic chemistry of insect neuropeptides.
Chimie bioorganique des neuropeptides des insectes.
SUZUKI A.
Tokyo University, Faculty of Agriculture, Japan
1988 Journal of the Agric. Chemical Society of Jpn., Vol. 62 (10), 1435-1442. (J)

Flutter-stimulating activities on male eri-silk moths, *Philosamia cynthia ricini*, of four geometric isomers of 4,9-tetradecadienyl formate.
Activités stimulatrices du vol chez les papillons mâles eri, *Philosamia cynthia ricini*, de quatre isomères géométriques de formiate de 4,9-tetradecadienyl.
TOMIDA I., IWAKOSHI K., KONO S., TAKAHASHI T. et al.
Shinshu Univ., Ina, Nagano Faculty of Agriculture, Japan.
1987 Agricultural and Biological Chemistry, Vol. 51(3), 939-940. (E)

Metamorphose of wing motor system in the silk moth, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) : anatomy of the sensory and motor neurons that innervate larval mesothoracic dorsal musculature, stretch receptors, and epidermis.
Métamorphose du système moteur des ailes chez *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) : anatomie des neurones moteurs et sensoriels innervants la musculature dorsale mésothoracique larvaire, les récepteurs d'extension et l'épiderme.
TSUJIMURA H.
Lab. Biol., Tokyo University of Agriculture & Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan.
1988 Int. J. Insect Morphol. & Embryol., Vol. 17 (4/5), 367-380. (E)

Variation in location and size of identified flight motoneurons in the silk moth, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae).

Variation dans la localisation et la taille des neurones moteurs du vol identifiés chez le papillon *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae).

TSUJIMURA H.

Lab. of Biol., Tokyo Univ. of Agric. & Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1987 *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.*, Vol. 16 (3/4), 271-284. (E)

Metamorphosis of wing motor system in the silk moth, *Bombyx mori* : Origin of wing motor neurons.

Métamorphose du système moteur des ailes chez le papillon, *Bombyx mori* : Origine des neurones moteurs des ailes.

TSUJIMURA H.

Lab. of Biology, Tokyo Univ. Agric. & Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1989 *Develop. Growth & Differ.*, Vol. 31(4), 331-339. (E)

Variations of aminotransferase activity in the gut of *Bombyx mori* (Lepidoptera) during the metamorphosis.

Variations de l'activité aminotransférase chez l'intestin de *Bombyx mori* (Lepidoptera) pendant la métamorphose.

URBASEK F.

Inst. of Soil Biol., Csechoslovak Acad. of Sci., Na sadkach 7, 37005Ceské, Czechoslovakia.

1989 *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 86 (5), 336-341. (E)

Studies on the protease activity and isoenzyme in digestive fluid of the silkworm larvae.

Etudes sur l'activité et les isozymes de la protéase dans le suc digestif des larves de vers à soie.

WANG Z., et al.

Sericultural Research Inst., Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (3), 149-152. (C,e)

Effect of the concentration of fetal bovine serum in a culture medium on the susceptibility of *Bombyx mori* cells to a nuclear polyhedrosis virus.

Effet de la concentration du milieu de culture en sérum de veau foetal sur la sensibilité des cellules de *Bombyx mori* au virus de la polyèdrose nucléaire.

WATANABE H.

Tokyo Univ., Faculty of Agriculture, Tokyo, Japan.

1987 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 22(3), 397-398. (E)

Research and production of composite amino acid used as medicine.

Recherche et production d'acides aminés composites utilisés comme médicaments.

XIONG G., BAI Y., GAO H., WENG D.

1988 *Xibei Daxue Xuebao*, Vol. 18 (4), 91-94. (C)

Investigations on the enhancement of the efficiency of transferring diet into silk by domestic silkworm. V. Increase of silk production by treatment with JHA-Methoprene.

Etudes sur le renforcement de l'efficacité du transfert des aliments dans la soie par le ver à soie domestiqué. V. Augmentation de la production de soie par traitement JHA-Méthoprene.

XU J., et al.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(3), 118-124. (C,e)

Isolation of pectins from silkworm excrements.

Isolement des pectines des excréments du ver à soie.

XU Y.

1989 *Shipin Kexue (Beijing)*, Vol. 113, 16-20. (C)

An imidazole compound as a potent anti-ecdysteroid in an insect.

Composé d'imidazole comme anti-ecdystéroïde puissant chez l'insecte.

YAMASHITA O., KADONO-OKUDA K., KUWANO E., ETO M.

Nagoya University, Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Agricultural and Biological Chemistry*, Vol. 51(8), 2295-2297. (E)

Studies on peroxidase isoenzymes in mulberry using starch gel electrophoresis.

Etudes des isoenzymes de la peroxydase chez les mûriers par électrophorèse sur gel d'amidon.

YANG X., YANG J.

1988 *Canye Kexue*, Vol. 14 (4), 194-197. (C)

Studies on the histochemistry and fate of the secretory granule of the suboesophageal gland in the domestic silkworm.

Etudes sur l'histochimie et le rôle du granule sécréteur de la glande sous-oesophagienne chez le ver à soie domestique.

ZHOU N., et al.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15 (3), 167-169. (C,e)

Studies on the histology and ultrastructure of the suboesophageal gland of the silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes sur l'histologie et l'ultrastructure de la glande sous-oesophagienne du ver à soie *Bombyx mori*.

ZHOU N., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(4), 230-232. (C)

Effects of YA20, an imidazole derivative, on the molting and metamorphosis of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets de YA20, un dérivé d'imidazole, sur la mue et la métamorphose du ver à soie *Bombyx mori*.

ZHUANG D., CHEN G., XIANG M. et al.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(4), 196-201. (C,e)

A preliminary report on the regulation of growth and development of the silkworm, *Bombyx mori* by using antijuvénile hormone analogue "anti 11".

Etude préliminaire sur la régulation de la croissance et du développement du ver à soie *Bombyx mori* à l'aide d'un analogue d'hormone anti-juvénile "Anti 11".

ZHUANG D., XIANG M., CHEN G., LI Z., YANG B., GUO C.

1988 *Kunchong Zhishi*, Vol. 25 (6), 359-360. (C)

Studies on the eclosion behaviour of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). 5: Sensitivity to eclosion hormone in the pharate-adults of the silkworm.

Etudes sur le comportement d'éclosion du ver à soie *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). 5: Sensibilité à l'hormone d'éclosion chez le pré-imago du ver à soie.

FUGO H., ORIKASA C.

Tokyo Univ. of Agriculture and Technology, Fuchu, Japan.

1987 *Japanese J. of Applied Entomology and Zoology*, Vol. 31(2), 116-120. (J)

Changes in lipid contents during embryonic development of tasar silkworm *Antheraea mylitta* D.

Variations du contenu en lipides au cours du développement embryonnaire du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D.

GOEL R.K., SINHA A. K., SENGUPTA K.

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

1988 *Indian J. Seric.*, Vol. 27 (1), 48-50. (E)

Organization and developmental timing of the *Bombyx mori* chorion gene clusters in strain C108.

Organisation et expression temporelle des groupements de gènes du chorion chez la souche C108 de *Bombyx mori*.

GOLDSMITH M. R.

Department of Zoology, University of Rhode Island, Kingston, Rhode Island, USA.

1989 *Developmental Genetics*, Vol. 10, 16-23. (E)

Complete amino acid sequence of *Bombyx mori* egg-specific protein deduced from cDNA clone. Séquence d'acide aminé complète de la protéine spécifique de l'oeuf de *Bombyx mori* obtenue à partir du clone cDNA.

INAGAKI S., YAMASHITA O.

1989 *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 10, 131. (E)

Manifestation of characteristics of the "Giant Egg" mutant of *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). 2) Artificial induction of large eggs by application of large amounts of 20-hydroxyecdysone.

Manifestation des caractéristiques du mutant "oeuf géant" de *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). 2) Induction artificielle de grands oeufs par application de quantités importantes de 20-hydroxyecdysone.

KAWAGUCHI Y., BANNO Y., DOIRA H., FUJII H.

1989 *Nippon Oyo Dobutsu Konchu Gokkaishi*, Vol. 33(2), 63-68. (J)

Manifestation of characters in the "giant egg" mutant of *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae), 1 : Characteristics of the Ge egg.

Manifestations des caractères du mutant "oeuf géant" chez *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae), 1 : Caractéristiques de l'oeuf Ge.

KAWAGUCHI Y., SHITO K., FUJII H., DOIRA H.

Kyushu Univ., Fukuoka, Faculty of Agriculture, Japan.

1987 *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, Vol. 31(4), 344-349. (J)

Effect of temperature and relative humidity on growth rates of gonads of different stages of *Phylosamia ricini* Boisd.

Effet de la température et de l'humidité relative sur les taux de croissance des gonades aux différents âges de *Phylosamia ricini* Boisd.

KOTBY F. A., EID M. A. A., HOSNY A., IBRAHIM S.

Plant Protection Inst., Raid Street, Agouza, Cairo. Faculty of Agric. Cairo Univ. Egypt.

1987 *Indian J. Seric.*, Vol. 26 (1), 11-15. (E)

Relationship between pupal size and egg production in eri silkworm *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : saturniidae).

Relation entre la taille de la chrysalide et la production d'œufs chez le ver à soie eri *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : saturniidae).

KOTIKAL Y. K., REDDY D. N. R., PRABHU A. S., BHAT G. G., PUSHPALATHAS.

Dept. of Seric., Univ. of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 80-82. (E)

Racial and seasonal variation in egg glycogen content of popular silkworm breeds (*Bombyx mori* L).

Variations saisonnières et selon les races du contenu des œufs en glycogène chez les souches communes de vers à soie (*Bombyx mori* L.).

KUMAR V., BENCHAMIN K. V., NOAMANI M. K. R.

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

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 97-99. (E)

Morphogenesis of silkmoth chorion : sequential modification of an early helicoidal framework through expansion and densification.

Morphogénèse du chorion chez les papillons séricigènes : modification séquentielle d'une structure hélicoïdale précoce par expansion et densification.

MAZUR G. D., REGIER J. C., KAFATOS F.

1989 *Tissu and Cell.*, Vol. 21, 227. (E)

Studies on physiological roles of esterase A4 in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes sur les rôles physiologiques de l'estérase A4 dans les œufs diapausants du ver à soie *Bombyx mori*.

MIAO Y.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(3), 165-167. (C)

Effect of refrigeration on egg incubation period of the tasar silk insect *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

Effet de la réfrigération sur la période d'incubation des œufs de l'insecte séricigène tasar *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

NAYAK B.K., DASH A.K.

1989 *Journal of the Lepidopterists Society, USA*, Vol. 43(2), 152-153. (E)

Phenotypic sex reversal in germ line cells of silkworm - sex reversal in male germ line of testes implanted into male larvae.

Inversion sexuelle phénotypique dans les cellules de la lignée germinale du ver à soie - inversion sexuelle dans la lignée germinale mâle des testicules implantés dans des larves mâles.

SHCHEGELSKAYA E.A., KLIMENKO V. V.

1989 *Tsitologiya i Genetika*, Vol. 23, 8.

Survival of larval ovaries and testes frozen in liquid nitrogen in the silkworm, *Bombyx mori*.
Survie des ovaires et des testicules larvaires de ver à soie *Bombyx mori* congelés dans l'azote liquide.
SHINBO H.

1989 Cryobiology, Vol. 26, 389. (E)

Changes in free amino acids during embrionic development of *Antheraea proley* J.
Changements dans les acides aminés libres au cours du développement embryonnaire chez *Antheraea proley* J.

SINHA A. K., SINHA U. S. P., SENGUPTA K.

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

1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 118-120. (E)

Studies on the embryonic diapause in the pnd mutant of the silkworm, *Bombyx mori* : characterization of protein synthesis during early development.

Etudes sur la diapause embryonnaire chez le mutant pnd du ver à soie *Bombyx mori* : caractérisation de la synthèse protéique au cours du développement précoce.

SONOBE H.

1989 Zoological Science, Vol. 6, 515. (E)

Comparison and study on chorion protein amino acids of four species of silkworms.

Comparaison et étude sur les acides aminés des protéines du chorion de quatre espèces de vers à soie.
SUN F., et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 241-242. (C)

Some factors related to hatching ability of long-term chilled eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.
Certains facteurs liés à la capacité d'éclosion des oeufs du ver à soie *Bombyx mori* réfrigérés à long terme.

TAKEI R., NAGASHIMA E., NAKAGAKI M.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58 (5), 387-391. (J)

Effect of formaldehyde on the hatchability of silkworm eggs of, *Bombyx mori* L.

Effet du formaldéhyde sur l'éclosion des oeufs de *Bombyx mori* L.

THIAGARAJAN V.

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

1988 Indian J. Seric., Vol. 27 (1), 42-44. (E)

Specific lipids of the silkworm eggshell.

Les lipides spécifiques du chorion du ver à soie.

WU D.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 144-148. (C)

Properties of ultraviolet spectrum of *Bombyx mori* chorionins.

Propriétés du spectre ultraviolet des chorionines de *Bombyx mori*.

XIA B., et al.

Institute of Zoology, Academia Sinica, China.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(1), 45-48. (C,e)

Effect of Methoprene on the embryonic development of eggs of silkworm, *Bombyx mori*.
Effet du Méthoprene sur le développement embryonnaire du ver à soie *Bombyx mori*.

XU S., et al.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (4), 233-236. (C)

Intergenic sperm nucleic transformation in the Eri silkworm eggs.

Transformation nucléaire intergénique du sperme dans les œufs du ver à soie Eri.

ZHANG G.

1989 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15 (3), 153-155. (C)

Biosynthesis of egg-specific protein in the silkworm, *Bombyx mori* and its hormonal regulation.
Biosynthèse d'une protéine spécifique de l'œuf chez le ver à soie *Bombyx mori* et sa régulation hormonale.

ZHU J.

1988 Shengwu Huawue Yu Shengwu Wuli Xuebao, Vol. 20(6), 575-584. (C)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Activation of silk secretion by silkworms *Philosamia ricini* and *Bombyx mori* after applying antibiotics (Egypt).

Activation de la sécrétion de soie par les vers à soie *Philosamia ricini* et *Bombyx mori* après application d'antibiotiques (Egypte).

ABD-EL-NABI.

Cairo Univ., Faculty of Agriculture, Egypt.

1988 Thesis (Ph. D. in Economic Entomology) Library Fac. of Agric. Cairo, 132 p. (E)

Expression concertée des gènes codant pour les protéines de la soie chez *Bombyx mori*. Des facteurs protéiques identiques reconnaissent les régions 5'flanquantes des gènes de P25 et de la fibroïne.

Organised expression of genes encoding for the silk proteins in *Bombyx mori*. Identical proteinic factors identified the 5'flanking regions of the fibroin and P25 genes.

DREVET J.

1989 Thèse pour diplôme de doctorat, Univ Claude Bernard Lyon I., France, 90 p. (F)

Transcription signals and protein binding sites for sericin gene transcription in vitro.

Signaux de transcription et sites de fixation des protéines pour la transcription du gène de sérécine in vitro.

MATSUNO K., HUI C. C., TAKIYA S., SUZUKI T. et al.

Dept. of Develop. Biology, National Inst. for Basic Biol., Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1989 The J. of Biol. Chem., Vol. 264 (31), 18707-18713. (E)

The expression of five middle silk gland specific genes is territorally regulated during the larval development of, *Bombyx mori*.

L'expression de cinq gènes spécifiques du réservoir de la glande séricigène est territorialement régulée lors du développement larvaire de *Bombyx mori*.

MICHAILLE J.J., GAREL A., PRUDHOMME J. C.

Lab. Biol. Appl. CNRS UA 92, Univ. Cl. Bernard, 43 bd du 11/11/18 69622 Villeurbanne, France

1989 Insect Biochem., Vol. 19 (1), 19-27. (E)

Soie

Silk

Solvent effects on shrink proofing of silk fabrics.

Effets des solvants pour empêcher le rétrécissement de la soie.

ASAI N., HAYASHI Y., OKAGAWA I.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 396-400. (J)

Characterization of historical and artificially aged silk fabrics.

Caractéristique de la soie ancienne véritable et de la soie artificiellement vieillie.

HERSH S.P., TUCKER P.A., BECKER M.A.

1989 *Advances in chemistry series (USA)*, Vol. 220, 427-449. (E)

Studies on the correlation between cocoon shell sericin percent and cocoon shell quality in, Bombyx mori.

Etudes sur la corrélation entre le pourcentage de sérécine de la coque et la qualité de la coque chez Bombyx mori.

HUANG L.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(4), 225-227. (C)

The chitosan treatment of dyed silk fabrics.

Traitement "chitosan" des soies teintées.

KAKO T., KATAYAMA A.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 374-379. (J)

Bleaching and decoloring of the composite yarn mixed with silk and nylon.

Décoloration et blanchiment du fil composite soie-nylon.

KATO H., YASUDA K.

1989 *Acta Sericologica et Entomologica*, Vol.1, 1-9. (J)

On the expert system by means of applying principal component analysis for cocoon cooking.

Système expert pour la cuisson du cocon par application de l'analyse en composant principal.

KINOSHITA H., TAJIMA F.

Prefectural Research Institute for Information Techn., Matsumotocity, Nagano 399, Japan.

1989 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 58(5), 412-418. (J,e)

Primary research on digesting and cocoon shell transforming rates of various silkworm races.

Etude primaire sur les taux de digestion et de transformation de la coque chez diverses races de vers à soie.

LI L., et al.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(1), 57-60. (C)

Dyeing of silk cloth with colloidal gold.

Teinture de tissus de soie avec de l'or colloïdal.

NAKAO Y., KAERIYAMA K.

*1988 Journal of Applied Polymer Science, Vol. 36(2), 269-277. (E)***Correlation between duration and intensity of silk ESR signal at thermooxidative destruction.**

Corrélation entre la durée et l'intensité du signal ESR de la soie en destruction thermooxydative.

NURIEV E. S., KULIKOV A. V., MAMEDOV S. V.

*1989 Biofizika, Vol. 34, 561. (R)***Size detection of raw silk thread by means of image processing.**

Détection de la taille du fil de soie grège par imageur.

OHURA M., NISHIDE T., TOSHIMA Y.

*1987 American Society of Agric. Engineers, fiche n87-3044.(DNAL-fiche S-72). (E)***The development of a data acquisition system for filature factories.**

Développement d'un système d'acquisition des données pour des filatures.

OHURA M., TOSHIMA Y., NISHIDE T.

National Institute of Sericultural & Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

*1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(5), 424-430. (J,e)***Chlorinating silk with methanesulfonyl chloride in dimethylformamide and treating chlorinated silk with mercaptan.**

Chlorage de la soie avec du chlorure méthanesulfonyle dans du diméthyleformamide et traitement de cette soie chlorée avec du mercaptan.

SAKAMOTO M., KUMENO Y., DENO S., YAMAUCHI T.

*1988 Textile research journal, Vol. 58 (12), 689-696. (E)***Aqueous raw papaya extract : a promising substitute of biopril-50 in tasar silk reeling.**

Extrait aqueux brut de papaye : un substitut prometteur du biopril-50 pour dévider la soie tussah.

SINHA A. K., GHOSH S. S., SENGUPTA K.

Centr. Tasar Research & Training Inst., Ranchi, India. C. S. R. & T. I., Mysore, India.

*1989 Indian J. Seric., Vol. 28 (1), 67-70. (E)***Breeding of mulberry tetraploid plants.**

Culture de mûriers tétraploïdes.

SUN X., et al.

*1989 Cane Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 15(1), 60-61. (C)***Decision method of the optimum temperature pattern of cocoon cooking based on the fuzzy theory.**

Méthode de décision pour déterminer la température optimale de cuisson des cocons à partir de la théorie Fuzzy.

TAJIMA F., KINOSHITA H.

Nagano Prefectural Research Inst. for Information Tech., Matsumoto city, Nagano 399, Japan.

1989 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 58(5), 419-423. (J,e)

Reactivity of functional amino acid residues in silk fibroin of *Philosamia cynthia ricini* towards monoepoxides.

Réactivité des résidus d'acides aminés fonctionnels dans la fibroïne de *Phylosamia cynthia ricini* contre les monoépoxides.

TANAKA Y., SHIOZAKI H.

1989 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 45 (4), 147-158. (E)

Observations on the earwig, *Labia arachidis* (Yersin) (Dermaptera : labiidae) damaging the mulberry silk.

Observations des dommages causés par le perce-oreilles *Labia arachidis* (Yersin) (Dermaptera : Labiidae) sur la soie mûrier.

VISWESWARA GOWDA B. L., GOVINDAN R., NARAYANASWAMY T. K., et al.

Department of Seric., University of Agril. Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1989 *Indian J. Seric.*, Vol. 28 (1), 83-85. (E)

Modulation of the mechanical properties of spider silk by coating with water.

Modulation des propriétés mécaniques de la soie d'araignée en la recouvrant d'eau.

VOLLRATH F., EDMONDS D. T.

1989 *Nature*, Vol. 340, 305. (E)

Fluorescent spectrum analysis of the cocoons by using of laser.

Analyse du spectre de fluorescence des cocons à l'aide du laser.

WU Y., et al.

Sericultural Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, China.

1989 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(3), 162-164. (C,e)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

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

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

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

- Remerciements.

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

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

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

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

SETOYAMA K. (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.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.
- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.
- Acknowledgements.
- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.* , provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

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

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 x 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

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

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

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

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

Directeur Gérant : Dr. H. BOUVIER

Dépôt légal : 1^{er} trimestre 1990