

# sericologia

**Journal of Silkworms**

**Revue des Vers à Soie**

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

**Managing Director**  
**Chief Editor**  
**Deputy Editor**

**H. BOUVIER**  
**G. CHAVANCY**  
**A. FOURNIER**

**Directeur Gérant**  
**Rédacteur en Chef**  
**Rédacteur Adjoint**

## **COMITE DE REDACTION** **EDITORIAL BOARD**

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

|                                        |     |
|----------------------------------------|-----|
| Informations - Announcements . . . . . | 439 |
|----------------------------------------|-----|

## Articles originaux / Original papers

|                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Effect of hot water on the prevention of diapause in the silkworm,<br><i>Bombyx mori</i> . . . . . | 443 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Effet du traitement à l'eau chaude sur l'élimination de la diapause chez le ver à soie<br><i>Bombyx mori</i> . . . . . | 449 |
| RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU, K. VIJAYARAGHAVAN                                                                         |     |

|                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Effect of different densities of Kenchu virus inoculated silkworms in healthy<br>populations on the disease incidence and economic traits . . . . . | 451 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Effet de différentes densités de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des<br>populations saines sur l'incidence de la maladie et les caractères économiques . . | 457 |
| R. GOVINDAN, G.K. VEERESH, M.B. SHYAMALA, M.C. DEVAIAH,<br>T.K. NARAYANASWAMY                                                                                               |     |

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Ovicidal activity of essential oils againsts the Uzi fly, <i>Tricholyga bombycis</i> Beck.<br>(Diptera : Tachinidae) . . . . . | 461 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Activité ovicide de certaines huiles essentielles sur la mouche Uzi <i>Tricholyga</i><br><i>bombycis</i> Beck. (Dipera : Tachinidae) . . . . . | 467 |
| P. KUMAR, M.S. JOLLY, P.P. SHARMA                                                                                                              |     |

|                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Effet de la sélection de mûriers sur l'alimentation des vers à soie . . . . . | 469 |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                            |     |
|------------------------------------------------------------|-----|
| Effect of mulberry selection on silkworm feeding . . . . . | 475 |
| T.C. FONSECA, J.E. de ALMEIDA, A. da S. FONSECA            |     |

|                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Studies in the reproductive biology of mulberry. I. Sucrose, boron and growth<br>hormone requirements for pollen germination and pollen tube growth . . . . | 479 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Etudes sur la biologie de la reproduction du mûrier. I. Besoins en saccharose, en<br>bore et en hormone de croissance pour la germination du pollen et la croissance du<br>tube pollinique . . . . . | 485 |
| R. KUMAR, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, A.K. JAIN, M.S. JOLLY                                                                                                                                           |     |

|                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Ovary-dependent genetic determination of the egg shape and the yolk protein<br>in the small-egg 2 mutant of <i>Bombyx mori</i> . . . . . | 489 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Détermination génétique ovarienne de la forme des oeufs et des protéines du vitellus<br>chez le mutant à petits oeufs (sm-2) de <i>Bombyx mori</i> . . . . . | 499 |
| Y. KAWAGUCHI, H. DOIRA, Y. BANNO, H. FUJII                                                                                                                   |     |

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Morphology of the reproductive organ of <i>Antheraea mylitta</i> D. (Lepidoptera : Saturniidae) . . . . .    | 503 |
| Morphologie des organes reproducteurs chez <i>Antheraea mylitta</i> D. (Lepidoptera : Saturniidae) . . . . . | 511 |
| S. KUMAR                                                                                                     |     |

|                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Stability of posterior silk gland mRNAs : possible involvement of poly(A) sequences and proteins associated with mRNAs . . . . .            | 515 |
| Stabilité des ARNm du sécréteur de la glande séricigène : rôle possible des séquences poly(A) et des protéines associées aux ARNm . . . . . | 523 |
| A. SIRONMANI, G. SHANMUGAM                                                                                                                  |     |

#### Notes brèves / Brief notes

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Proanthocyanidins in the cocoon shell of three <i>Antheraea</i> species . . . . .     | 527 |
| Proanthocyanidines de la coque soyeuse de trois espèces d' <i>Antheraea</i> . . . . . | 531 |
| R.K. PANDEY, R.K. GOEL                                                                |     |

|                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Parasites of uzi fly, <i>Exorista sorbillans</i> Wiedemann (Diptera : Tachinidae)      |     |
| VII. New record on the alternate hosts of parasites of uzi fly . . . . .               | 533 |
| Parasites de la mouche uzi <i>Exorista sorbillans</i> Wiedemann (Diptera : Tachinidae) |     |
| VII. Nouvelles données sur les hôtes alternatifs des parasites de la mouche uzi . .    | 535 |
| P. KUMAR, A. KUMAR                                                                     |     |

|                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Studies on the influence of the gas of unysm dimethylhydrazine (UDMH) on mulberry and the silkworm, <i>Bombyx mori</i> . . . . . | 537 |
| Etudes sur l'influence du gaz unysm diméthylhydrazine (UDMH) sur le mûrier et le ver à soie <i>Bombyx mori</i> . . . . .         | 541 |
| YANG D.Z., XU W.Q., LIU G.F., ZENG J., SON R.S.                                                                                  |     |

|                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Field trials of Reshamkeet Oushadh on the cocoon yield of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L. . . . .                    | 543 |
| Etudes pratiques de l'effet du Reshamkeet Oushadh sur le rendement en cocons du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. . . . . | 547 |
| M. BAIG, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA, B.D. SINGH, T.O. SASIDHARAN, M.K.R. NOAMANI                                |     |

|                                        |     |
|----------------------------------------|-----|
| Bibliographie / Bibliography . . . . . | 549 |
|----------------------------------------|-----|

## INFORMATIONS - ANNOUNCEMENTS

### **Dr Henri Bouvier - Secrétaire général honoraire**

Le **Dr Henri Bouvier**, élu Secrétaire général de la Commission séricicole internationale pour la première fois en 1979 lors de la conférence de Paris, a décidé de remettre son mandat lors de notre dernière conférence en décembre 1990.

Réélu successivement en 1981 à Lyon, puis en 1984 à Bangalore et en 1987 à Pattaya, il a présidé aux destinées de la C.S.I. pendant plus de 10 années.

Au cours de ces dix années, chacun a pu se rendre compte de la chaleur des rapports qu'entretenait le Dr Bouvier avec les représentants des Etats-membres ou non membres de la C.S.I. ainsi qu'avec toutes les personnes qui sollicitaient son aide ou ses conseils.

En toutes occasions, il a défendu l'idée que la C.S.I. devait être un lieu de rencontres et d'échanges au service du développement et des populations des zones les plus défavorisées de la planète, la sériciculture étant à ses yeux l'une des activités les plus adaptées à assurer un revenu monétaire à ces populations.

Ayant succédé à Monsieur André Schenk, Secrétaire général fondateur de la C.S.I., il a su, malgré les difficultés, maintenir et développer les activités essentielles de notre organisation.

C'est avec regret et émotion que les délégués de la Conférence de Paris en décembre 1990 ont pris acte de sa décision. Ils ont unanimement décidé d'attribuer le titre de Secrétaire général honoraire au Dr Bouvier.

En leur nom et à titre personnel, je remercie le Dr Bouvier de son action, ses encouragements et son amitié et je lui souhaite une bonne retraite en espérant que son intérêt pour la sériciculture et la Commission séricicole internationale reste aussi vif que celui du Secrétaire général fondateur.

Gérard Chavancy,  
Secrétaire général de la C.S.I.

## **Dr Henri Bouvier - Honorary Secretary-General**

**Dr Henri Bouvier**, first elected Secretary-General of the International Sericultural Commission in 1979 during the Paris conference, decided to hand in his mandate during our last conference in December 1990.

Successively re-elected in Lyon in 1981, then in Bangalore in 1984 and in Pattaya in 1987, he ruled over the destiny of the I.S.C. for more than 10 years. During this decade, every one could appreciate Dr Bouvier's warmth in his relations with the representatives of the Member States and of non-member States as well as with all the persons who sought his assistance or his advice.

On all occasions, he defended the idea that the I.S.C. should be a meeting and exchange place in the service of development and of the most underprivileged populations in the world, sericulture being, in his eyes, one of the most suited activities to ensure monetary income to these populations.

Having taken over from Mr André Schenk, the Founder Secretary-General of the I.S.C., he managed, in spite of the difficulties, to continue and develop the main activities of our organization.

It was with regret and emotion that the delegates of the Paris Conference in December 1990 took note of his decision. They unanimously decided to confer on Dr Bouvier the title of Honorary Secretary-General of the I.S.C.

On their behalf and in my own name, I express my warmest thanks to Dr Bouvier for his action, his support and his friendship and I wish him a pleasant retirement, hoping that his interest for sericulture and the International Sericultural Commission remains as deep as that of the Founder Secretary-General.

Gérard Chavancy,  
Secretary-General of the I.S.C.

La **XIIIe Conférence de la C.S.I.**, qui s'est tenue à Paris du 3 au 6 décembre 1990, a réuni 45 délégués de 18 pays. Les travaux de la Conférence, qui ont été appuyés par 25 communications orales, ont permis d'examiner un certain nombre de secteurs et de prendre des décisions quant à l'action de la C.S.I. dans les prochaines années : projets de développement et de démarrage de la sériciculture, notamment en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie ; effet de l'utilisation des insecticides mimétiques d'hormones sur la sériciculture ; intérêt de la sériciculture comme culture de remplacement du pavot ou de la coca ; utilisation du ver à soie comme outil biotechnologique ; projet international de cartographie génétique moléculaire de *Bombyx mori* ...

La Conférence a également élu le nouveau Secrétaire général de la Commission Séricicole Internationale, le Dr Gérard Chavancy (France) et le Bureau (Brésil, France, Inde, Japon).

The **13th I.S.C. Conference**, which was held in Paris from 3-6 December 1990, brought together 45 delegates from 18 countries. The work of the Conference, which was backed up by 25 oral papers, enabled us to examine a number of sectors and to take decisions as regards the action of the I.S.C. for the years to come : projects for launching and developing sericulture, in particular, in South America, in Africa and in Asia ; effect of the use of hormone mimetic insecticides on sericulture ; interest of sericulture as poppy and coca replacement crop ; use of the silkworm as a biotechnological tool ; international project for constructing a molecular gene map of *Bombyx mori* ...

The Conference also elected the new Secretary-General of the International Sericultural Commission Dr Gérard Chavancy (France) and the Board (Brazil, France, India, Japan).

Le **Gouvernement vietnamien** et l'**O.N.U.D.I.** organisent à Ho Chi Minh Ville, du 11 au 15 mars 1991, un Forum des Investisseurs.

Parmi plus de 180 projets couvrant l'ensemble des secteurs industriels, plusieurs concernent la sériciculture et la soie. Pour participer à ce Forum, les personnes ou les entreprises intéressées doivent s'adresser aux représentations de l'O.N.U.D.I. dans les différents pays.

The **Vietnamese Government** and **U.N.I.D.O.** organize a Forum of Investors in Ho Chi Minh City from 11-15 March 1991.

Among more than 180 projects covering all the various industrial sectors, several concern sericulture and silk. To participate in this Forum, interested persons or firms should contact the representatives of U.N.I.D.O. in the different countries.

# EFFECT OF HOT WATER ON THE PREVENTION OF DIAPAUSE IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU & K. VIJAYARAGHAVAN

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

*Diapause in the eggs of a polyvoltine and five bivoltine strains of the silkworm, Bombyx mori were successfully terminated by using hot water for 4, 5, 6, 7 and 8 seconds duration. It was found that diapause was completely prevented from 4 to 6 seconds duration in the polyvoltine strain while 4 and 5 seconds duration was sufficient for Daizo, a bivoltine strain. In the Chinese type strains, hatchability decreased drastically as the duration of treatment increased beyond 5 seconds. However, the Japanese type strains showed uniform hatchability at all levels of treatment. The rearing performance of hot water-treated and acid-treated batches did not show any difference.*

**Keywords :** Diapause, hatchability, *Bombyx mori*.

## INTRODUCTION

Extensive studies have been carried out on the biology of diapause in insects (Bedford, 1970 ; Chippendale, 1977). Diapause is a physiological event which is programmed to be coordinated with the environment and it occurs at egg, larval, pupal or adult stages of the insect and the stage is species-specific (Yamashita and Hasegawa, 1985). Several methods have been developed to prevent diapause in insects like urea (Hagan, 1962), mercuric chloride (Ando, 1971), Oxygen (Okada, 1977) and hydrochloric acid (Watanabe, 1935 ; Kai *et al.*, 1981). Physical factors like photoperiod (Williams, 1969) and temperature (Matthee, 1951) are the most efficient in terminating diapause in insects. However, among all the methods, the treatment of silkworm eggs with hydrochloric acid was found to be safe and convenient. In the present study, an attempt has been made to prevent diapause in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, by using hot water treatment.

## MATERIALS AND METHODS

Effect of hot water on the prevention of diapause was studied in the eggs of an improved polyvoltine Hosa Mysore which occasionally lays hibernating eggs to a tune of 4 to 6 % during winter months, Daizo, a bivoltine strain which lays 70 % hibernating and 20 to 30 % non-hibernating eggs, the Chinese type bivoltine strains KA and NB7 and the Japanese type bivoltine strains NB18 and NB4D2. In Hosa Mysore and Daizo, the hibernating layings were distinguished from non-hibernating on the basis of their pigmentation, the layings which tend to diapause are deep yellow whereas the non-diapausing eggs are light yellow in both the strains. Eggs were treated within 24 hrs of oviposition. As shown in Fig. 1 there will not be much difference in the embryonic development during the first 24 hrs in the polyvotine and bivoltine strains. Complete layings laid by each strain were utilized for treatment. Layings were dipped in hot water at 56°C for 4, 5, 6, 7 and 8 seconds. As the room

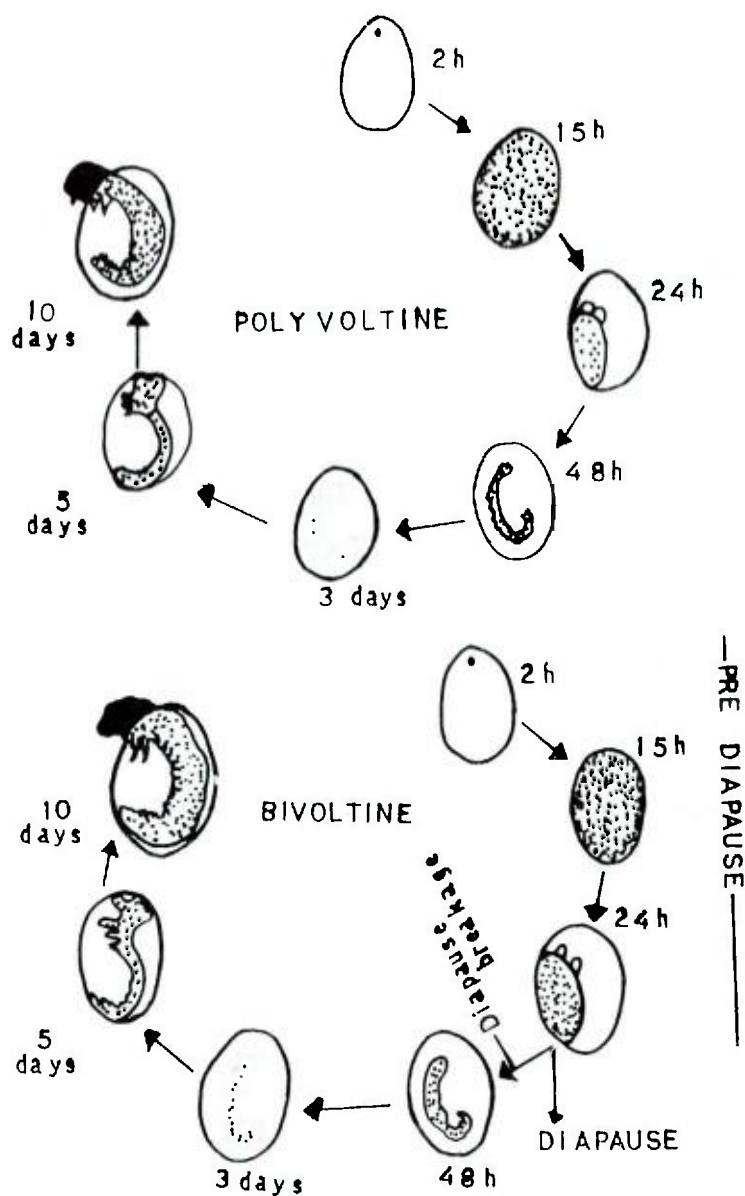


Fig. 1 : Schematic illustration showing normal embryonic development of polyvoltine and bivoltine eggs at 25°C.

Fig. 1 : Schéma montrant le développement embryonnaire normal des oeufs bivoltins et polyvoltins à 25°C.

Table I. Effect of hot water in prevention of diapause in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.Tableau I. Effet du traitement à l'eau chaude sur l'élimination la diapause des oeufs du ver à soie *Bombyx mori*.

| Treatments<br>Traitements                                                 | Silkworm strains / Souches de vers à soie |                       |                       |                                |                       |                       |
|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                                                           | KA                                        | NB <sub>7</sub>       | NB <sub>18</sub>      | NB <sub>4</sub> D <sub>2</sub> | Daizo                 | Hosa Mysore           |
| Control / Témoins<br>(Acid treated)<br>(5 minutes)<br>(traités à l'acide) | 98.34 ± 0.15<br>(100)                     | 97.70 ± 0.56<br>(100) | 97.86 ± 0.47<br>(100) | 97.94 ± 0.37<br>(100)          | 93.56 ± 0.89<br>(100) | 93.56 ± 0.29<br>(100) |
| 4 seconds<br>4 secondes                                                   | 95.54 ± 0.77<br>(97)                      | 87.47 ± 3.69<br>(90)  | 96.65 ± 1.39<br>(99)  | 92.87 ± 5.08<br>(95)           | 91.86 ± 1.63<br>(98)  | 94.16 ± 0.91<br>(101) |
| 5 seconds<br>5 secondes                                                   | 91.50 ± 4.96<br>(93)                      | 66.85 ± 1.54<br>(68)  | 90.32 ± 4.95<br>(92)  | 96.42 ± 1.07<br>(98)           | 92.38 ± 1.10<br>(99)  | 90.25 ± 3.16<br>(96)  |
| 6 seconds<br>6 secondes                                                   | 13.24 ± 3.82<br>(13)                      | 72.30 ± 7.55<br>(74)  | 95.60 ± 1.37<br>(98)  | 93.90 ± 1.29<br>(96)           | 80.20 ± 4.87<br>(86)  | 94.78 ± 0.50<br>(101) |
| 7 seconds<br>7 secondes                                                   | 18.48 ± 6.45<br>(19)                      | 6.22 ± 1.43<br>(6)    | 91.62 ± 0.26<br>(94)  | 93.95 ± 3.98<br>(96)           | 83.10 ± 2.78<br>(89)  | 91.42 ± 2.00<br>(98)  |
| 8 seconds<br>8 secondes                                                   | 3.10 ± 1.89<br>(3)                        | 6.35 ± 2.73<br>(6)    | 90.85 ± 1.92<br>(93)  | 94.80 ± 1.98<br>(97)           | 68.54 ± 2.98<br>(73)  | 86.42 ± 2.55<br>(92)  |

The data indicate the average hatching per cent ± SE of 5 replicates. The layings treated with hot hydrochloric acid were used as control. The values in parentheses indicate the per cent change with the corresponding control values taken as 100 %.

Les données indiquent le pourcentage moyen d'éclosion ± l'écart type de 5 réplicats. Les pontes traitées à l'acide chlorhydrique sont utilisées comme témoins. Les valeurs entre parenthèses indiquent le pourcentage de variation par rapport aux valeurs correspondantes des témoins pris comme 100 %.

temperature was 30°C during hot water treatment, the water temperature was fixed by the following formula :

$$A = \frac{B + C}{2}$$

Where :

A = Temperature of water required for treatment

B = 180°F,

C = Average preservation temperature after oviposition

After treatment layings of all strains were incubated at a uniform temperature and humidity of 25°C and 80-85 % respectively. Layings were exposed on the 10th day of the treatment for hatching and hatchability was recorded on the same day. The layings were also treated with the conventional hydrochloric acid treatment method in which the eggs were treated by hydrochloric acid of 46°C with a specific gravity of 1.075 for 5 minutes. Acid-treated layings were used as real control. At least 5 layings were used for each treatment.

## RESULTS AND DISCUSSION

The effect of hot water in the prevention of diapause in the eggs of the silkworm is given in Table I. The results were compared with hydrochloric acid treatment method. In the polyvoltine strain, Hosa Mysore, diapause was successfully prevented in the treatments 4, 5 and 6 seconds whereas in Daizo, a bivoltine strain, 4 and 5 seconds treatments prevented diapause to a considerable extent. An interesting feature in the prevention of diapause with hot water is that in layings where both hibernating and non-hibernating eggs were found in mixed condition, the hot water treatment resulted in normal hatchability of the non-hibernating eggs also which otherwise would have got burnt during hot acid treatment.

In the Chinese type strains KA and NB7, the maximum hatchability was found at 4 seconds of hot water treatment. The longer durations, that is 6, 7 and 8 seconds, resulted in embryonic mortality in both the strains. On the other hand, the Japanese type strains, NB18 and NB4D2 showed a good hatchability in all the levels of hot water treatments. The rearing performance of hot water and acid-treated eggs of one of the bivoltine strains, NB18 was studied, both batches did not show any difference.

From this study, it is evident that the diapause could be successfully prevented with simple hot water treatment. The caution required is in the correctness in maintaining the water temperature and duration of treatment.

## REFERENCES

- ANDO Y. (1971), Distribution of mercury in the eggs of the false melon beetle, *Atrachya menetriens* Faldermann (Coleoptera: Chrysomelidae) treated with mercuric chloride for breaking diapause. Appl. Ent. Zool. 6, 67-74.
- BEDFORD G. O. (1970), The development of the egg of *Didymura violescens* (Phosmatodea : Phosmatidae) - Embryology and determination of the stage at which first diapause occurs. Aust. J. Zool., 18, 155-169.
- CHIPPENDALE G. M. (1977), Hormonal regulation of larval diapause. Ann. Rev. Ent., 22, 121-138.
- HOGAN T.W. (1962), The absorption and subsequent breakdown of urea by diapausing eggs of *Acheta commodus* (Walk) (Orthoptera : Gryllidae). Aust. J. Biol. Sci., 15, 362-370.
- KAI H., KATO J. and KAWAI T. (1981), Similar action of acid treatment to long chilling for breaking diapause in respect to esterase A - Activities in egg. J. Sericult. Sci. Japan., 50, 373-378.
- MATTHEE J. J. (1951), The structure and the physiology of the egg of *Locustana parardalina* (Walk). Sci. Bull. Dep. Agric. Un. S. Afr., 316, 1-83.
- OKADA M. (1971), Role of chorion as a barrier to oxygen in the diapause of the silkworm, *Bombyx*

*mori* L. *Experientia*, 27, 658-660.

WATANABE K. (1935), On the hatching of silkworm eggs by acid treatment. *Tech. Bull. Seric. Exp. Sta.*, 47, 1-38.

WILLIAMS C. M. (1969), Photoperiodism and the endocrine aspects of insect diapause. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 23, 285-300.

YAMASHITA O., HASEGAWA K. (1985), Embryonic diapause. *In* *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Ed. G.A. Kerkut and L.I. Gilbert), Vol. I. (embryology and reproduction), p. 407-430.

# EFFET DU TRAITEMENT A L'EAU CHAUDE SUR L'ELIMINATION DE LA DIAPAUSE CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI*

RAVINDRA SINGH, J. NAGARAJU & K. VIJAYARAGHAVAN

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore  
570 008, Inde.

*On est parvenu à éliminer la diapause chez des oeufs d'une souche polyvoltine et de cinq souches bivoltines du ver à soie *Bombyx mori* en les plongeant dans l'eau chaude pendant des durées variables de 4, 5, 6, 7 et 8 secondes. On observe que des durées de 4 à 6 secondes permettent d'empêcher complètement la diapause chez la souche polyvoltine, tandis que les durées de 4 et 5 secondes sont suffisantes pour la souche bivoltine Daizo. Chez les souches chinoises, le taux d'éclosion diminue fortement lorsque la durée du traitement se prolonge au-delà de 5 secondes. Cependant, les souches japonaises présentent un taux d'éclosion uniforme à tous les niveaux de traitement. Il n'y a pas de différence quant à la performance d'élevage entre les lots traités à l'eau chaude et les lots traités à l'acide.*

## INTRODUCTION

Des études approfondies ont été menées sur la biologie de la diapause chez les insectes (Bedford, 1970 ; Chippendale, 1977). La diapause est un phénomène physiologique qui est programmé en fonction de l'environnement et se produit aussi bien au stade de l'oeuf qu'aux stades larvaire, pupal ou adulte de l'insecte. Ce stade est spécifique de l'espèce (Yamashita et Hasegawa, 1985). Plusieurs méthodes ont été mises au point afin d'empêcher la diapause chez les insectes, par exemple les traitements à l'urée (Hagan, 1962), au chlorure de mercure (Ando, 1971), à l'oxygène (Okada, 1977) et à l'acide chlorhydrique (Watanabe, 1935 ; Kai et coll., 1981). Les facteurs physiques comme la photopériode (Williams, 1969) et la température (Matthee, 1951) sont les plus efficaces pour interrompre la diapause chez les insectes. Cependant, de toutes ces méthodes, on remarque que le traitement à l'acide chlorhydrique est le plus sûr et le plus pratique. Dans la présente étude, on a tenté d'interrompre la diapause des oeufs du ver à soie *Bombyx mori* par traitement à l'eau chaude.

## MATERIELS ET METHODES

L'effet du traitement à l'eau chaude sur l'élimination de la diapause est étudié sur des oeufs d'une souche polyvoltine Hosa Mysore améliorée qui pond occasionnellement des oeufs diapausants à raison de 4 à 6 % pendant les mois d'hiver, sur des oeufs de la souche bivoltine Daizo qui pond 70 % d'oeufs diapausants et 20 à 30 % d'oeufs non-diapausants, sur les souches bivoltines chinoises KA et NB7 et sur les souches bivoltines japonaises NB18 et NB4D2. Chez Hosa Mysore et Daizo, les pontes diapausantes se distinguent des autres par leur pigmentation, les oeufs qui tendent à diapauser étant jaune foncé alors que les oeufs non diapausants sont jaune clair chez les deux souches. Les oeufs sont traités 24 heures après l'oviposition. Comme le montre la figure 1, il n'y a pas de grande différence au niveau du développement embryonnaire au cours des 24 premières heures entre les souches polyvoltines et bivoltines. Des pontes entières issues de chaque souche sont utilisées pour le traitement. Les pontes sont plongées dans l'eau chaude à 56°C pendant 4, 5, 6, 7 et 8 secondes. La

température ambiante étant de 30°C pendant le traitement à l'eau chaude, la température de l'eau a été déterminée par la formule suivante :

$$A = \frac{B + C}{2}$$

où :

A = température de l'eau requise pour le traitement,

B = 180°F,

C = température de conservation moyenne après l'oviposition.

Après traitement, les pontes de toutes les souches sont incubées à une température et une humidité uniformes (25°C et 80 à 85 %, respectivement). Les pontes sont mises à éclore 10 jours après le traitement et le taux d'éclosion est enregistré le même jour. Les pontes sont également traitées par la méthode courante de l'acide chlorhydrique qui consiste à les plonger dans l'acide chlorhydrique de densité 1,075 à 46°C pendant 5 minutes. Les pontes traitées à l'acide servent de témoin réel. Au moins cinq pontes sont utilisées pour chaque traitement.

## RESULTATS ET DISCUSSION

L'effet de l'eau chaude sur la prévention de la diapause des oeufs du ver à soie est donné dans le tableau I. Les résultats sont comparés avec ceux du traitement à l'acide chlorhydrique. Chez la souche polyvoltine Hosa Mysore, on parvient à interrompre la diapause avec des traitements de 4, 5 et 6 secondes, alors que chez Daizo, souche bivoltine, des traitements de 4 et 5 secondes permettent de réduire considérablement la diapause. Une caractéristique intéressante de l'interruption de la diapause par traitement à l'eau chaude réside dans le fait que, chez les pontes mixtes ayant à la fois des oeufs diapausants et des oeufs non diapausants, le traitement à l'eau chaude permet une éclosion normale des oeufs non diapausants qui sont habituellement tués au cours du traitement à l'acide chaud.

Chez les souches chinoises KA et NB7, le traitement à l'eau chaude pendant 4 secondes donne le taux d'éclosion maximum. Les durées plus longues, c'est-à-dire 6, 7 et 8 secondes, provoquent une mortalité embryonnaire chez les deux souches. Par ailleurs, les souches japonaises NB18 et NB4D2 donnent un taux d'éclosion positif à tous les niveaux de traitement à l'eau chaude. La performance d'élevage des oeufs traités à l'eau chaude et des oeufs traités à l'acide, étudiée avec la souche NB18, ne fait apparaître aucune différence entre les deux lots.

Cette étude montre clairement que la diapause peut être interrompue avec succès par simple traitement à l'eau chaude. La seule précaution indispensable est de maintenir très précisément la température de l'eau et la durée du traitement.

# EFFECT OF DIFFERENT DENSITIES OF KENCHU VIRUS INOCULATED SILKWORMS IN HEALTHY POPULATIONS ON THE DISEASE INCIDENCE AND ECONOMIC TRAITS

R. GOVINDAN, G.K. VEERESH, M.B. SHYAMALA, M.C. DEVAIAH &  
T.K. NARAYANASWAMY

Department of Sericulture, Agriculture College, University of Agricultural Sciences, GKVK,  
Bangalore 560065, India.

*The release of Kenchu virus inoculated silkworms at densities of 4, 8, 12, 16, 20 and 24 % into healthy silkworm batches in the second instar of Pure Mysore, a polyvoltine strain of the silkworm, Bombyx mori L., revealed that the reduction in larval weight and ET<sub>50</sub> for symptom manifestation and mortality, extent of cocooning and cocoon characters and extension of the moulting period and instar duration was higher as the density of infected individuals increased.*

**Keywords :** *Bombyx mori*, Kenchu virus, effect of density of infected individuals.

## INTRODUCTION

Kenchu is a widely prevalent flacherie condition of the silkworm, *Bombyx mori* L., in Karnataka (India). It is caused by a small, spherical non-occluded virus measuring  $27 \pm 2$  nm in diameter (Hadimani and Shyamala, 1983). Understanding the epizootiological aspects of an infectious disease is an important prerequisite for designing the practices to minimise the incidence of the disease particularly in productive insects like the silkworm, *Bombyx mori* L. Perusal of the literature revealed little information on the incidence of Kenchu virus disease of the silkworm as influenced by the varied densities of Kenchu virus infected individuals among the healthy worms. Hence, an experiment was conducted to know the effect of releasing various densities of Kenchu virus inoculated silkworms among healthy populations on the disease build-up and economic characters and the results are appearing in this paper.

## MATERIALS AND METHODS

Kenchu virus was purified from experimentally infected individuals by following the method of Inoue and Ayuzawa (1972) employed for infectious flacherie virus, as modified by Hadimani (1980). Surface-sterilized mulberry leaves were uniformly smeared with Kenchu virus stock suspension and fed to the second instar worms of the most susceptible strain of the polyvoltine silkworm Pure Mysore (*Bombyx mori* L.). The worms inoculated in this manner were released into healthy second instar bed of Pure Mysore at various densities viz. 4, 8, 12, 16, 20 and 24 per cent. An untreated control was also maintained. Each treatment was replicated four times. Silkworm rearing was done as per Krishnaswami (1978). Observations were recorded on the progressive larval weight, moulting duration, extent of progression to different instars, instar duration, extent of spinning worms, weights of cocoon, cocoon shell and pupa and cocoon shell ratio. The data were analysed statistically.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results on the effect of releasing Kenchu virus inoculated silkworms into healthy populations in various proportions are discussed below under different sections.

### Larval weight :

The larval weight corresponding to 10 worms on the 7th day after infection was 0.3850, 0.3953 and 0.3997 g in respect of 24, 20 and 16 per cent density of infected individuals, respectively, which were similar with each other and significantly lower compared to the others. The larval weight corresponding to the control (0.4620 g) and 4 per cent density (0.4650 g) was maximum and significantly higher than that in all the others (Table I).

The weight of ten worms in the control was the highest (2.0980 g) on the 15th day after infection. There was a gradual yet statistically significant decrease in the larval weight attendant on releasing infected individuals (1.5952 to 0.8545 g). A similar trend was also observed in the maximum larval weights recorded.

### Moulting duration :

The duration of the second moult in different treatments ranged from 22.67 to 27.33 hr. The delay in the moulting time in 20 and 24 per cent treatments was found to be statistically higher than in the other treatments (Table I). The duration of the third moult in different treatments ranged from 24.33 to 34.00 hr. At the higher releases of 12 to 24 per cent (30 to 34 hr), the delay was highly significant. A more pronounced prolongation of the IV moult duration as compared to the II and III moults was seen in all densities above 8 % (32.33 to 38.00 hr) as against 28.00 to 30.33 hr in the control and 4 % treatment, respectively.

### Instar progression :

There was no significant difference in the percentage of worms entering the III instar. The release of eight to 24 per cent density of infected individuals into healthy batches in the II instar resulted in a significant decrease in the percentage of worms progressing to the IV instar (94.00 to 73.33 per cent) as compared to 98.0 per cent in control larvae. Differences in worms entering the V instar in 8 to 24 per cent treatments were statistically borne out as compared to 90.67 per cent in the control larvae (Table II).

### Instar duration :

There was a significant prolongation of all the instars from II to V. The second instar duration was 3.08 days in healthy control as against 4.00 to 4.67 days in the different releases of infected worms. The third instar was 4.75 days long in the control which increased to 4.92 to 6.75 in the treated ones while the IV instar duration was again minimum in the control (5.08 days) as compared to 6.08 to 12.08 days in different releases. The magnitude of difference in duration of the V instar was comparable to that recorded for the IV instar (9.08 days in the control and 10.50 to 15.58 days in the batches containing the released infected individuals) (Table II).

### ET<sub>50</sub> for symptom exhibition and mortality :

There was a gradual decrease in the ET<sub>50</sub> for symptom expression as the percentage of released individuals increased (22.33 to 13.33 days). A similar effect was also recorded for ET<sub>50</sub> for mortality (30.00 to 17.67 days) in the release percentages ranging from 4 to 24 per cent (Table III). Even, Eswarappa (1983) observed an increase in the time taken for 100 % mortality of worms with decrease in the density of infected individuals released into healthy batches.

### Cocooning and cocoon, pupal and cocoon shell weights :

The drastic effect of releasing Kenchu infected silkworms into healthy populations at as low a level as 4 per cent (the lowest examined in the present investigation) was clearly felt in the number of cocoons spun which happens to be one of the important economic traits in practical sericulture. It was 30 per cent as compared to 90.67 per cent in healthy, control worms. The severity of effect was

Table I. Effect of releasing Kenchu virus inoculated silkworms into healthy populations in various proportions in second instar on progressive larval weight and moulting durations.

Tableau I. Etude de l'introduction de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des populations saines. Effet de la densité d'introduction sur la croissance du poids au 2ème âge larvaire et sur la durée de la mue.

| Sl. no.<br>N° de série | Density of Kenchu virus infected individuals released<br>Densité d'individus infestés par le virus de Kenchu | Weight of 10 worms on 7th day<br>Poids de 10 vers au 7ème jour (g) | Weight of 10 worms on 15th day<br>Poids de 10 vers au 15ème jour (g) | Maximum larval weight of 10 worms<br>Poids larvaire maximum de 10 larves (g) | Second moulting duration<br>Durée de la 2ème mue (hr) | Third moulting duration<br>Durée de la 3ème mue (hr) | Fourth moulting duration<br>Durée de la 4ème mue (hr) |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1                      | 4 %                                                                                                          | 0.4650                                                             | 1.5952                                                               | 11.1635                                                                      | 22.67                                                 | 25.00                                                | 30.33                                                 |
| 2                      | 8 %                                                                                                          | 0.4310                                                             | 1.5069                                                               | 10.6740                                                                      | 23.33                                                 | 26.33                                                | 32.33                                                 |
| 3                      | 12 %                                                                                                         | 0.4190                                                             | 1.2694                                                               | 10.1857                                                                      | 23.33                                                 | 30.00                                                | 33.33                                                 |
| 4                      | 16 %                                                                                                         | 0.3997                                                             | 1.0423                                                               | 9.4750                                                                       | 24.67                                                 | 31.67                                                | 34.67                                                 |
| 5                      | 20 %                                                                                                         | 0.3953                                                             | 0.9958                                                               | 8.5340                                                                       | 27.33                                                 | 33.33                                                | 36.33                                                 |
| 6                      | 24 %                                                                                                         | 0.3850                                                             | 0.8545                                                               | 8.0897                                                                       | 26.67                                                 | 34.00                                                | 38.00                                                 |
| 7                      | Untreated control<br>Témoin non traité                                                                       | 0.4620                                                             | 2.0980                                                               | 14.5270                                                                      | 23.33                                                 | 24.33                                                | 28.00                                                 |
|                        | S.Em ±                                                                                                       | 0.0081                                                             | 0.0478                                                               | 0.5931                                                                       | 0.94                                                  | 0.81                                                 | 0.77                                                  |
|                        | Ecart type moyen ±                                                                                           |                                                                    |                                                                      |                                                                              |                                                       |                                                      |                                                       |
|                        | C.D. at 5 %                                                                                                  | 0.0249                                                             | 0.1472                                                               | 1.8270                                                                       | 2.896                                                 | 2.496                                                | 2.372                                                 |

Table II. Impact of releasing Kenchu virus inoculated silkworms into healthy populations in various proportions in second instar on extent of progression to different instars and instar duration.

Tableau II. Impact de l'introduction de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des populations saines. Effet de la densité sur l'évolution aux différents âges et sur la durée de la période larvaire.

| Sl. no.<br>N° de série | Density of Kenchu virus inoculated individuals released<br>Densité d'individus infestés par le virus de Kenchu | % progression to |                  |                | Instar duration (days) |                           |          |          |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|----------------|------------------------|---------------------------|----------|----------|
|                        |                                                                                                                | Third instar     | Fourth instar    | Fifth instar   | Second                 | Third                     | Fourth   | Fifth    |
|                        |                                                                                                                |                  | % de progression |                |                        | Durée larvaire (en jours) |          |          |
|                        |                                                                                                                | 3ème âge         | 4ème âge         | 5ème âge       | 2ème âge               | 3ème âge                  | 4ème âge | 5ème âge |
| 1                      | 4 %                                                                                                            | 96.00 (81.21)*   | 94.00 (76.69)*   | 81.33 (65.73)* | 4.08                   | 4.92                      | 6.08     | 10.50    |
| 2                      | 8 %                                                                                                            | 95.00 (79.80)    | 90.00 (71.80)    | 82.67 (65.49)  | 4.08                   | 5.25                      | 6.50     | 11.42    |
| 3                      | 12 %                                                                                                           | 96.67 (81.81)    | 82.00 (65.04)    | 79.33 (63.00)  | 4.00                   | 5.50                      | 6.58     | 12.67    |
| 4                      | 16 %                                                                                                           | 94.00 (76.34)    | 79.33 (66.03)    | 63.33 (52.76)  | 4.25                   | 5.75                      | 7.42     | 13.33    |
| 5                      | 20 %                                                                                                           | 93.33 (78.29)    | 76.67 (62.68)    | 59.33 (50.42)  | 4.33                   | 6.25                      | 9.08     | 14.25    |
| 6                      | 24 %                                                                                                           | 91.33 (75.26)    | 73.33 (59.12)    | 55.33 (48.07)  | 4.67                   | 6.75                      | 12.08    | 15.58    |
| 7                      | Untreated control<br>Témoin non traité                                                                         | 100.00 (90.00)   | 98.00 (83.44)    | 90.67 (72.82)  | 3.08                   | 4.75                      | 5.08     | 9.08     |
|                        | S.Em. ±                                                                                                        | -                | 2.70             | 2.92           | 0.10                   | 0.15                      | 0.23     | 0.23     |
|                        | Ecart type moyen ±                                                                                             |                  |                  |                |                        |                           |          |          |
|                        | C.D. at 5 %                                                                                                    | NS               | 8.320            | 8.998          | 0.308                  | 0.462                     | 0.708    | 0.708    |

\* Figures in parentheses are angular transformed values / Les données entre parenthèses sont des valeurs angulaires transformées.  
N.S. = Non-significant / Non significatif.

Table III. Influence of releasing Kenchu virus inoculated silkworms into healthy populations in various proportions in second instar on ET<sub>50</sub> for Kenchu symptom exhibition and mortality, extent of cocooning and cocoon parameters.

Tableau III. Etude de l'introduction de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des populations saines. Effet de la densité d'animaux infestés sur l'ET<sub>50</sub> pour l'apparition des symptômes et la mortalité et sur le poids au 2ème âge larvaire et la durée de la mue.

| Sl. no.<br>N° de série | Density of Kenchu virus inoculated individuals released<br>Densité d'individus infestés par le virus de Kenchu | ET <sub>50</sub> for Kenchu symptom exhibition (days)<br>ET <sub>50</sub> pour la manifestation des symptômes (en jours) | ET <sub>50</sub> for mortality (days)<br>ET <sub>50</sub> pour la mortalité (en jours) | Per cent cocooning<br>Pourcentage de filage | Weight of 10 cocoons (g)<br>Poids de 10 cocons (g) | Weight of 10 pupae (g)<br>Poids de 10 chrysalides (g) | Weight of 10 cocoon shells (g)<br>Poids de 10 coques (g) | Cocoon shell ratio (%)<br>Richesse soyeuse (%) |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1                      | 4 %                                                                                                            | 22.33<br>(4.773)*                                                                                                        | 30.00<br>(5.504)*                                                                      | 30.00<br>(33.20)**                          | 6.925<br>(2.742)*                                  | 5.9813<br>(2.5456)*                                   | 0.8707<br>(1.1707)*                                      | 12.26<br>(20.49)**                             |
| 2                      | 8 %                                                                                                            | 22.00<br>(4.740)                                                                                                         | 28.00<br>(5.290)                                                                       | 24.33<br>(29.55)                            | 6.471<br>(2.639)                                   | 5.5750<br>(2.4643)                                    | 0.8602<br>(1.1662)                                       | 13.29<br>(21.36)                               |
| 3                      | 12 %                                                                                                           | 19.00<br>(4.414)                                                                                                         | 26.67<br>(5.163)                                                                       | 22.00<br>(27.95)                            | 6.261<br>(2.587)                                   | 5.3890<br>(2.4266)                                    | 0.8110<br>(1.1449)                                       | 12.95<br>(21.07)                               |
| 4                      | 16 %                                                                                                           | 17.33<br>(4.220)                                                                                                         | 22.00<br>(4.742)                                                                       | 10.00<br>(18.42)                            | 6.158<br>(2.576)                                   | 5.3154<br>(2.4108)                                    | 0.8069<br>(1.1430)                                       | 13.10<br>(21.19)                               |
| 5                      | 20 %                                                                                                           | 16.33<br>(4.100)                                                                                                         | 20.33<br>(4.509)                                                                       | 7.00<br>(15.24)                             | 6.102<br>(2.568)                                   | 5.2840<br>(2.4033)                                    | 0.7770<br>(1.1299)                                       | 12.74<br>(20.88)                               |
| 6                      | 24 %                                                                                                           | 13.33<br>(3.718)                                                                                                         | 17.67<br>(4.222)                                                                       | 0.00<br>(0.707)                             | 0.00<br>(0.707)                                    | 0.00<br>(0.707)                                       | 0.00<br>(0.707)                                          | 0.00<br>(0.707)                                |
| 7                      | Untreated control<br>Témoin non traité                                                                         | 0.00<br>(0.707)                                                                                                          | 0.00<br>(0.707)                                                                        | 90.67<br>(72.15)                            | 7.010<br>(2.740)                                   | 6.0247<br>(2.5537)                                    | 0.9372<br>(1.1987)                                       | 13.39<br>(21.44)                               |
|                        | S.Em ± / Ecart type moyen ±                                                                                    | 0.068                                                                                                                    | 0.068                                                                                  | 3.747                                       | 0.032                                              | 0.0326                                                | 0.0087                                                   | 0.26                                           |
|                        | C.D. at 5 %                                                                                                    | 0.209                                                                                                                    | 0.209                                                                                  | 11.544                                      | 0.0986                                             | 0.1004                                                | 0.0268                                                   | 0.801                                          |

\* Figures in parentheses are  $\sqrt{X+0.5}$  transformed values / Les chiffres entre parenthèses indiquent les valeurs transformées en  $\sqrt{X+0.5}$ .

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

also evident in the 24 per cent treatment where a 100 per cent mortality was noticed (Table III). The percentage of spinning worms reduced gradually with the increase in the percentage of release. Eswarappa (1983) observed a 100 per cent mortality in releases of 4 to 40 % of Kenchu virus inoculated silkworms made in the first instar.

There was a gradual decrease in the cocoon weight as the percentage of infected individuals released increased (Table III). The cocoon weight reduction from 8 to 20 per cent treatments was found to be statistically significant (7.010 g in control and 6.102 to 6.471 in treatments). A similar trend was also noticed in the pupal weight and cocoon shell weight. However, it was interesting to note that differences in the cocoon shell ratio were of small magnitude and a definite trend was not seen (12.26 to 13.29 %) in the treated batches.

From the foregoing results, it is evident that the larval weight attainment was more affected in batches containing a high density of infected individuals. Similar was the trend in respect of moulting periods and stadal durations as well as extent of progression to the subsequent instars. Further, the time taken for 50 per cent of the worms to exhibit typical Kenchu symptoms and ET<sub>50</sub> for mortality was shorter in batches containing a higher density of infected individuals. The accrual of these effects in such a way is attributable to the rapid contamination of the mulberry leaf by the virus which in turn was ingested by the associating healthy individuals in the same beds. These observations can be comparable with those of Jacques (1962) in *Trichoplusia ni* infected by the nuclear polyhedrosis virus and Putman (1970) in the European red mite, *Panonychus ulmi*, infected by a non-inclusion virus. The deterioration in cocoon, pupal and cocoon shell weights of surviving population was higher in respect of the batches released with a higher number of infected individuals. However, it is interesting to note that though the cocoon shell ratio fell down in different treatments compared to the control, a definite trend was not encountered.

## REFERENCES

- ESWARAPPA S. (1983), Studies on the stability and spread of Kenchu virus of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus. M. Sc. (Agri.) thesis, U.A.S., Bangalore, p.141.
- HADIMANI A.K. (1980), Studies on the nature of Kenchu disease of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus in Karnataka. M. Sc. Agri., thesis, U.A.S., Bangalore, p.153.
- HADIMANI A.K., SHYAMALA M.B. (1983), On the nature of "Kenchu" disease of the silkworm, *Bombyx mori*, in Karnataka. Natl. Semi. Silk Res. & Dev., C.S.B., Bangalore, pp. 21.
- INOUE H., AYUZAWA C. (1972), Fluorescent antibody study of an infectious flacherie of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 19, 227-230.
- JACQUES R.P. (1962), The transmission of a nuclear polyhedrosis virus in laboratory populations of *Trichoplusia ni* Hubner. J. Insect Pathol., 4, 433-445.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing. Bull. no. 2, C.S.R. & T. I., C. S. B., Mysore, p. 23.
- PUTMAN W.L. (1970), Occurrence and transmission of a virus disease of the European red mite, *Panonychus ulmi*. Can. Entomol., 102, 305-321.

# EFFET DE DIFFERENTES DENSITES DE VERS A SOIE INFESTES PAR LE VIRUS DE KENCHU DANS DES POPULATIONS SAINES SUR L'INCIDENCE DE LA MALADIE ET LES CARACTERES ECONOMIQUES

R. GOVINDAN, G.K. VEERESH, M.B. SHYAMALA, M.C. DEVAIAH & T.K. NARAYANASWAMY

Departement of Sericulture, Agriculture College, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore 560065, Inde.

*L'introduction de vers à soie infestés par le virus de Kenchu, aux densités de 4, 8, 12, 16, 20 et 24 %, dans des lots de vers à soie sains du deuxième âge de la souche polyvoltine Pure Mysore de Bombyx mori L. révèle que plus la densité d'infestation est forte plus la réduction du poids larvaire, l'ET<sub>50</sub> pour la manifestation des symptômes et la mortalité, la durée du filage et les caractères du cocon, la prolongation de la mue et la durée larvaire augmentent.*

## INTRODUCTION

Le Kenchu est une flacherie de *Bombyx mori* L. largement répandue dans l'Etat du Karnataka (Inde). Elle est provoquée par un petit virus sphérique non-occlus d'un diamètre de  $27 \pm 2$  nm (Hadimani et Shyamala, 1983). Comprendre les aspects épizootiques d'une maladie infectieuse est une condition essentielle si l'on veut mettre au point des méthodes de lutte contre les maladies, en particulier, chez les insectes d'intérêt commercial comme le ver à soie *Bombyx mori* L. La lecture de la littérature révèle qu'il existe peu de renseignements sur l'incidence de la maladie du virus de Kenchu sur le ver à soie lorsque sont introduits des individus infestés par le virus de Kenchu dans une population saine. Aussi, une expérience a-t-elle été menée afin d'observer les effets de l'introduction, dans des populations saines, de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des proportions variables, sur le développement de la maladie et les caractères économiques. Les résultats sont donnés dans cet article.

## MATERIELS ET METHODES

Le virus de Kenchu est purifié à partir d'invidus infestés expérimentalement suivant la méthode de Inoue et Ayuzawa (1972), utilisée pour le virus de la flacherie infectieuse, et modifiée par Hadimani (1980). Des feuilles de mûrier, dont la surface a été stérilisée, sont arrosées d'une solution concentrée du virus de Kenchu puis fournies comme nourriture à des vers à soie du deuxième âge de la souche la plus sensible du ver à soie polyvoltin Pure Mysore (*Bombyx mori* L.). Les vers ainsi infestés sont introduits à diverses densités, soit 4, 8, 12, 16, 20 et 24 %, sur des litières de larves saines Pure Mysore du deuxième âge. Par ailleurs, un lot non traité constitue le témoin. Chaque traitement est répété quatre fois. L'élevage des vers à soie est réalisé suivant la méthode de Krishnaswamy (1978). Les observations concernent la croissance du poids larvaire, la durée de la mue, le taux de croissance aux différents âges, la durée de l'âge larvaire, la durée du filage, le poids du cocon, le poids de la coque, le poids de la chrysalide et la richesse soyeuse. Les données sont analysées statistiquement.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats sur l'effet de l'introduction de diverses proportions de vers à soie infestés par le virus de Kenchu dans des populations saines sont discutés ci-dessous.

### Poids larvaire :

Le poids larvaire, correspondant à 10 vers 7 jours après l'infestation, est de 0,3850, 0,3953 et 0,3997 g pour les densités de 24, 20 et 16 %, respectivement. Ces poids sont similaires entre eux et significativement plus faibles que les autres. Les poids larvaires correspondant au témoin (0,4620 g) et à la densité de 4 % (0,4650 g) sont les poids maximaux et sont nettement plus élevés que tous les autres (Tableau I).

Le poids de 10 larves est le plus élevé (2,0980 g) chez le témoin 15 jours après l'infestation. Il y a une diminution progressive mais statistiquement significative du poids larvaire concomitante à l'introduction d'individus infestés (1,5952 à 0,845 g). Une tendance similaire est observée pour les poids larvaires maximaux.

### Durée de la mue :

La durée de la deuxième mue dans les différents traitements varie de 22,67 à 27,33 heures. On observe que le retard de mue chez les lots traités à 20 et 24 % est statistiquement plus élevé que chez les autres lots (Tableau I). La durée de la troisième mue chez les différents traitements varie de 24,33 à 34,00 heures. Pour l'introduction à forte densité de 12 à 24 % (30 à 34 heures), le retard est tout à fait significatif. On observe une prolongation plus marquée de la durée de la quatrième mue par rapport à la deuxième et à la troisième mue pour toutes les densités supérieures à 8 % (32,33 à 38,00 heures contre 28,00 à 30,33 heures chez le témoin et le traitement à 4 %, respectivement).

### Développement larvaire :

Il n'y a aucune différence significative dans le pourcentage des larves atteignant le troisième âge. L'introduction à des densités de 8 à 24 % d'individus infestés dans les lots sains du deuxième âge se traduit par une diminution significative du pourcentage de vers à soie atteignant le quatrième âge (94,00 à 73,33 %) contre 98,0 % chez les larves témoins. Des différences pour les larves atteignant le cinquième âge avec les traitements de 8 à 24 % sont statistiquement confirmées par rapport aux 90,67 % obtenus chez les larves témoins (Tableau II).

### Durée larvaire :

On observe une prolongation significative de tous les âges larvaires, du deuxième au cinquième âge. La durée du deuxième âge larvaire est de 3,08 jours chez le témoin sain contre 4,00 à 4,67 jours pour les divers lots traités. Le troisième âge dure 4,75 jours chez le témoin et augmente chez les larves traitées de 4,92 à 6,75 %, alors que la durée du quatrième âge est à nouveau minimum chez le témoin (5,08 jours) par rapport à 6,08 à 12,08 jours pour les différents traitements. L'amplitude de la différence au cinquième âge est comparable à celle que l'on observe pour le quatrième âge (9,08 jours chez le témoin et 10,50 à 15,58 jours pour les lots contenant des individus infestés) (Tableau II).

### ET<sub>50</sub> pour la manifestation des symptômes et la mortalité :

Il y a une diminution progressive de l'ET<sub>50</sub> pour l'expression des symptômes au fur et à mesure que le pourcentage d'individus infestés introduits augmente (22,33 à 13,33 jours). Un effet similaire est également observé pour la mortalité (30,00 à 17,67 jours) pour les pourcentages d'introduction de 4 à 24 % (Tableau III). De même, Eswarappa (1983) a observé une augmentation du temps nécessaire à une mortalité de 100 % des vers lorsque la densité d'individus infestés introduits dans des lots sains diminue.

### Filage, poids du cocon, poids de la chrysalide, poids de la coque :

L'effet radical que provoque l'introduction de vers à soie infestés par le virus de Kenchu, même à la faible densité de 4 % (le taux le plus bas examiné dans la présente étude), est clairement mis en évidence par le nombre de cocons filés qui est justement l'un des caractères économiques importants

de la sériciculture pratique. Ce nombre est de 30 % par rapport à 90,67 % chez les larves témoins saines. L'impact de ce traitement est également évident chez le traitement à 24 % dans lequel on observe une mortalité de 100 % (Tableau III). Le pourcentage de filage diminue progressivement à mesure que le pourcentage d'introduction augmente. Eswerappa (1983) a observé une mortalité de 100 % pour des introductions de vers infestés au premier âge de 4 à 40 %.

Il y a une diminution significative du poids du cocon lorsque le pourcentage d'individus infestés introduits augmente (Tableau III). On remarque que la réduction du poids du cocon pour les traitements de 8 à 20 % est statistiquement significative (7,010 g chez le témoin et 6,102 à 6,471 g chez les lots traités). Une tendance similaire est également observée pour le poids de la chrysalide et le poids de la coque. Cependant, il est intéressant de noter que les différences de richesse soyeuse sont de faible amplitude et que l'on ne remarque aucune tendance définie chez les lots traités (12,26 à 13,29 %).

D'après ces résultats, il est évident que le poids larvaire obtenu est plus affecté chez les lots contenant une densité élevée d'individus infestés. On note une tendance similaire en ce qui concerne les durées de mue, les durées larvaires et le développement aux âges suivants. De plus, le temps nécessaire à 50 % des larves pour manifester les symptômes typiques de Kenchu et l'ET<sub>50</sub> pour la mortalité sont plus faibles chez les lots contenant une densité plus forte d'individus infestés. La manière dont se traduit l'augmentation de ces effets peut être attribuée à la contamination rapide de la feuille de mûrier par le virus de Kenchu qui est à son tour assimilé par les individus sains associés dans la même litière. Ces observations sont comparables à celles de Jacques (1962) pour *Trichoplusia ni* infesté par le virus de la polyédrose nucléaire et à celles de Putman (1970) pour la mite rouge d'Europe *Panonychus ulmi* infestée par un virus sans inclusion. La diminution du poids du cocon, du poids de la coque, du poids de la chrysalide chez la population survivante est plus forte pour les lots dans lesquels ont été propagés un plus grand nombre d'individus infestés. Cependant, il est intéressant de noter que, bien que la richesse soyeuse diminue chez les différents traitements par rapport au témoin, on n'a pas pu observer de tendance définie.

# OVICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST THE UZI FLY, *TRICHOLYGA BOMBYCIS* BECK. (DIPTERA : TACHINIDAE)

P. KUMAR, M.S. JOLLY\* & P. P. SHARMA

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

*Essential oils like lemon, lime and orange were tested in the laboratory to determine their ovicidal effect against the Uzi fly, Tricholyga bombycis Beck., a serious endoparasite of the silkworm, Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae). The different concentrations like 0.1, 0.5 and 1.0 % of all the oils were significantly effective compared to the control as ovicide on all the ages viz. 1, 12 and 24 hours of eggs. However, 1 % lemon oil was most effective in reducing the hatchability (0 to 2.38 % in treatment vs. 91.51 to 93.21 % in control).*

**Keywords :** Essential oils, ovicidal, *Tricholyga bombycis*, parasite, Tachinidae, *Bombyx mori*.

## INTRODUCTION

In recent years the Uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck., a serious endoparasite of the silkworm, *Bombyx mori* L., has been reported to cause considerable damage to the sericulture industry of India including mulberry and non-mulberry tracts (Jolly and Kumar, 1985 ; Thangavelu *et al.*, 1985).

Several chemicals and oils extracted from various plants and fruits have been tested for their action against many insect species (Su *et al.*, 1972 ; Saxena *et al.*, 1978 ; Pandey *et al.*, 1981 ; Harish Chander and Ahmed, 1983). The egg stage is the most vulnerable, but the least studied in terms of its relative susceptibility (Smith and Salkeld, 1966).

Review of the literature indicates that studies have not been carried out to determine the susceptibility of Uzi fly eggs to plant products and oils. However, various interesting findings and observations made by several authors against the eggs of several insect species prompted us to take up the present experiment to study the efficacy of essential oils as ovicide against *Tricholyga bombycis* Beck.

## MATERIALS AND METHODS

A laboratory culture of *Tricholyga bombycis* was maintained in netted cages (size 1 Cu. feet) having sleeves. Solution of 10 % glucose soaked in cotton was provided daily as a diet to the adult flies (Sriharan *et al.*, 1980). Four to five days old mated female flies from this culture were used for infestation on silkworms.

---

\* Director (Retd.), Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, India.

Table I. Efficacy of essential oils on different ages of uzi fly eggs laid on silkworms.

Tableau I. Efficacité des huiles essentielles sur les oeufs de la mouche uzi de différents âges pondus sur les vers à soie.

| Concentrations<br>of oil (%)                 | Percentage of hatching (average) / <i>Pourcentage d'éclosion (moyenne)</i> |                  |                  |                                                       |                  |                  |                                                 |                  |                  |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------|------------------|------------------|
|                                              | Lemon oil<br>Age of eggs (hrs)                                             |                  |                  | Lime oil<br>Age of eggs (hrs)                         |                  |                  | Orange oil<br>Age of eggs (hrs)                 |                  |                  |
| Concentration<br>en huile (%)                | <i>Huile de citron</i><br>Age des oeufs (heures)                           |                  |                  | <i>Huile de citron vert</i><br>Age des oeufs (heures) |                  |                  | <i>Huile d'orange</i><br>Age des oeufs (heures) |                  |                  |
|                                              | 1                                                                          | 12               | 24               | 1                                                     | 12               | 24               | 1                                               | 12               | 24               |
| 0.1                                          | 13.80<br>(21.80)                                                           | 20.54<br>(26.91) | 24.82<br>(29.86) | 73.19<br>(58.89)                                      | 78.58<br>(62.45) | 80.65<br>(63.95) | 73.48<br>(59.02)                                | 75.09<br>(60.07) | 76.55<br>(61.02) |
| 0.5                                          | 3.17<br>(10.25)                                                            | 12.43<br>(20.61) | 15.86<br>(23.42) | 63.15<br>(52.58)                                      | 67.36<br>(55.18) | 70.76<br>(57.15) | 63.05<br>(52.59)                                | 68.20<br>(55.67) | 73.56<br>(59.08) |
| 1.0                                          | 0.00<br>(0.00)                                                             | 0.00<br>(0.00)   | 2.38<br>(8.76)   | 18.92<br>(25.76)                                      | 25.91<br>(30.59) | 28.70<br>(33.43) | 27.96<br>(31.88)                                | 36.46<br>(37.13) | 41.34<br>(40.01) |
| Control (acetone)<br><i>Témoin (acétone)</i> | 88.58<br>(70.31)                                                           | 88.79<br>(70.42) | 90.84<br>(72.43) | 91.25<br>(72.82)                                      | 90.65<br>(72.22) | 92.21<br>(73.84) | 92.98<br>(74.63)                                | 91.18<br>(72.68) | 90.72<br>(72.19) |
| Control (absolute)<br><i>Témoin (absolu)</i> | 91.51<br>(73.02)                                                           | 91.52<br>(73.09) | 93.21<br>(74.89) | 94.07<br>(75.91)                                      | 93.20<br>(74.90) | 95.46<br>(77.76) | 95.46<br>(77.76)                                | 94.38<br>(76.28) | 93.71<br>(75.48) |

Values are mean of 5 replications. Figures in parentheses indicate the mean data after angular transformation.

Les valeurs sont la moyenne de 5 réplicats. Les données entre parenthèses correspondent aux valeurs moyennes après transformation angulaire.

|                            | Concentration<br><i>Concentration</i> | Oil<br><i>Huile</i> | Age<br><i>Age</i> | Concentration × oil × age<br><i>Concentration × huile × âge</i> |
|----------------------------|---------------------------------------|---------------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------|
| SE ± / <i>Ecart type</i> ± | 0.15                                  | 0.11                | 0.11              | -                                                               |
| C.D. at 5 %                | 0.41                                  | 0.32                | 0.32              | 1.22                                                            |

Rearing of silkworms (Race NB18) was conducted in a room having an anteroom fixed with wiremesh doors and windows to ensure availability of infestation-free silkworms for experimental use. Fourth and fifth instar larvae from this population were used for experimentation. The desired concentrations (0.1, 0.5 and 1.0 %) of lemon, lime and orange oil were prepared in acetone and sprayed individually with the help of an atomiser on the body of the silkworms at the rate of 5 ml per 100 larvae.

Three sets of larvae having 1, 12 and 24 hours old eggs were sprayed with 0.1, 0.5 and 1.0 % of each essential oil. These concentrations were also sprayed on the infestation-free silkworms which were subsequently exposed to infestation one hour after the treatment.

Two sets of control with and without acetone spray were also run along with the treatments. For each treatment, five replications each of 100 larvae were considered and the data on hatchability of Uzi fly eggs, based on number of scars found on the body of the silkworms were recorded. An average temperature of  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  and an average relative humidity  $78 \pm 8$  per cent were recorded during the period of studies. The data were analysed statistically and all the comparisons are made at 5 % level of significance (Fisher and Yates, 1982).

Table II. Efficacy of essential oils against uzi fly eggs laid after one hour of spray.

*Tableau II. Efficacité des huiles essentielles contre les oeufs de la mouche uzi pondus une heure après pulvérisation.*

| Treatment<br>concentration %<br><br><i>Traitement<br/>(concentration en %)</i> | Average per cent hatching           |                             |                       |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
|                                                                                | Lemon oil                           | Lime oil                    | Orange oil            |
|                                                                                | <i>Pourcentage moyen d'éclosion</i> |                             |                       |
|                                                                                | <i>Huile de citron</i>              | <i>Huile de citron vert</i> | <i>Huile d'orange</i> |
| 0.1                                                                            | 80.79<br>(64.06)                    | 86.27<br>(68.25)            | 90.42<br>(71.95)      |
| 0.5                                                                            | 70.13<br>(56.92)                    | 80.44<br>(63.80)            | 91.94<br>(64.83)      |
| 1.0                                                                            | 46.42<br>(42.98)                    | 58.17<br>(49.70)            | 61.41<br>(51.57)      |
| Control (acetone)                                                              | 90.65<br>(72.22)                    | 90.24<br>(72.43)            | 94.38<br>(76.28)      |
| <i>Témoin (acétone)</i>                                                        |                                     |                             |                       |
| Control (absolute)                                                             | 92.21<br>(73.84)                    | 93.21<br>(74.89)            | 95.46<br>(77.72)      |
| <i>Témoin (absolu)</i>                                                         |                                     |                             |                       |

Values are mean of 5 replications. The figures in parentheses indicate the mean data after angular transformation.  
*Les valeurs sont la moyenne de 5 répliquats. Les données entre parenthèses indiquent les valeurs moyennes après transformation angulaire.*

|                                    | Concentration<br><i>Concentration</i> | Oil<br><i>Huile</i> | Concentration $\times$ oil<br><i>Concentration <math>\times</math> huile</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| SE $\pm$ / <i>Ecart type</i> $\pm$ | 0.24                                  | 0.19                | -                                                                            |
| C.D. at 5 %                        | 0.69                                  | 0.54                | 1.20                                                                         |

## RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained are presented in Tables I and II. The data collected indicate that a higher concentration of the different essential oils significantly better the ovicidal effect on all ages of Uzi fly eggs.

It is also observed that different concentrations of the three essential oils are highly effective in reducing the hatchability compared to both controls when silkworms are sprayed at intervals of 1, 12 and 24 hours of Uzi infestation (Table I). Lemon oil is significantly more effective than lime and orange oils. Similarly, lime oil has a significantly better ovicidal effect than orange oil. However, 1 % concentration of lemon oil is most effective on all the ages of Uzi fly eggs where hatchability remained confined between 0.00 to 2.38 % compared to 88.58 to 93.21 % in the controls (Table I).

The data presented in Table II, indicate that these oils at different concentrations are less effective (hatchability ranging between 46.42 to 90.42 %) when sprayed on the infestation-free silkworms and subsequently exposed to infestation at the interval of 1 hour compared to their ovicidal effectiveness (hatchability ranging between 0.00 to 73.48 %), when silkworms are first infested and subsequently treated at the interval of 1 hour (Table I).

It is found that the colour of the eggs sprayed with different concentrations of essential oils, changed from white to yellowish orange in about 24 hours of time and all such eggs failed to hatch. Saxena *et al.*, (1978) observed a change in the colour of the insect eggs and failure of hatching due to the influence of citral oil. Kumar *et al.*, (1986) reported that the colour of the eggs of *Tricholyga bombycis* changes from creamy white to yellowish brown and fail to hatch when sprayed with 1 % benzoic acid.

It is also recorded that hatchability increases with the increase in the age of eggs (Table I). The relationship between the age of eggs and the susceptibility of different essential oils agrees with the findings of Salkeld and Potter (1953) that the susceptibility of an insect egg to a toxicant may change during its embryonic development.

The mechanism by which different oils prevent Uzi fly eggs to hatch is not understood but the possible explanation for non-hatchability could be due to either of the explanations suggested with regard to the action of various toxicants. These include, the change in the permeability of the egg shell rather than the changes in the embryonic susceptibility (Potter & Tattersfield, 1943), the disruption in the exchange of gases through the outer covering of egg and penetration of chemical in the eggs causing coagulation of protoplasm or disturbance in some enzymatic and hormonal activities resulting in non-hatchability of eggs of different insect species (Martin, 1936 ; Hoskins, 1940).

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Mrs. Kshama Giridhar for her help in the statistical analysis of the data.

## REFERENCES

- FISHER R.A., YATES F. (1982), Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 6th Ed. Longman Press, England, p. 74-75.  
 HARISH CHANDER, AHMED S.M. (1983), Potential of some new plant products as grain protectants against insect infestation. Bull. Grain. Tech., 21(3), 179-188.  
 HOSKINS W.M. (1940), Recent contributions of insect physiology to insect toxicology and control. Hilgardia, 13, 307-386.  
 JOLLY M.S., KUMAR P. (1985), A three pronged approach to control Uzi fly. Indian Silk, 23(10-11), 5-6.  
 KUMAR P., JOLLY M.S., SHARMA P.P., REDDY V.V., SAMSON M.V. (1986), Ovicidal effect of organic acids against the Uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck. (Diptera : Tachinidae). Sericologia 26(2), 175-188.  
 MARTIN H. (1936), The scientific principles of plant protection. 2nd Ed. Edward Arnold and Co., London, p. 316.

- PANDEY G.P., DOHAREY R.B., VARMA B.K. (1981), Efficacy of some vegetable oils for protecting green gram against the attack of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.). Indian J. Agric. Sci., 51(12), 910-912.
- POTTER C., TATTERSFIELD F. (1943), Ovicidal properties of certain insecticides of plant origin (nicotine, pyrethrins, derris products). Bull. Entomol. Res., 34, 225-244.
- SALKELD E.H., POTTER C. (1953), The effect of the age and stage of development of insect eggs on their resistance to insecticides. Bull. Entomol. Res., 44, 527-580.
- SAXENA B.P., KOUL O., TIKKU K. (1978), Citral not a juvenile hormone mimic against insects. Indian J. Exp. Biol., 16(6), 703-705.
- SRIHARAN T.P., SAMSON M.V., KRISHNASWAMI S. (1980), Effect of glucose, molasses, honey and yeast on *Tricholyga bombycis* Beck. Indian J. Seric., 19(1), 1-3.
- SU H.C.F., SPEIRS R.D., MAHANY P.G. (1972), Toxicity of citrus oils to several stored product insects; Laboratory evaluation. J. Econ. Ent., 65(5), 1438.
- THANGAVELU K., BHAGOWATI A.K., CHAKRABORTY A.K. (1985), Uzi fly menace in Muga culture. Indian Silk, 24(3), 1-5.

# ACTIVITE OVICIDE DE CERTAINES HUILES ESSENTIELLES SUR LA MOUCHE UZI *TRICHOLYGA BOMBYCIS* BECK. (DIPTERA : TACHINIDAE)

P. KUMAR, M.S. JOLLY\* & P.P. SHARMA

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore  
570 008, Inde.

*Les huiles essentielles de citron, de citron vert et d'orange ont été testées en laboratoire afin de déterminer leur effet ovicide sur la mouche uzi, Tricholyga bombycis Beck., l'un des principaux endoparasites du ver à soie Bombyx mori L. (Lepidoptera : bombycidae). Les huiles se sont révélées ovicides par rapport au témoin pour des concentrations de 0,1, 0,5 et 1,0 % sur tous les âges testés, à savoir des oeufs de 1, 12 et 24 heures. Cependant l'huile de citron à 1 % est la plus efficace pour réduire le taux d'éclosion (0 à 2,38 % pour le lot traité contre 91,51 à 93,21 % chez le témoin).*

## INTRODUCTION

On a récemment observé que la mouche uzi, *Tricholyga bombycis* Beck., cause d'importants dommages à l'industrie séricicole en Inde aussi bien pour la branche mûrier que non mûrier (Jolly et Kumar, 1985 ; Thangavelu et coll., 1985).

Différents produits chimiques et huileux extraits de plantes ont été testés pour étudier leur action sur de nombreuses espèces d'insectes (Su et coll., 1972 ; Saxena et coll., 1978 ; Pandey et coll., 1981 ; Harish Chander et Ahmed, 1983). Le stade de l'oeuf est le plus vulnérable mais le moins étudié au niveau de sa sensibilité relative (Smith et Salkeld, 1966).

La lecture de la documentation indique qu'aucune étude n'a été conduite sur la sensibilité des oeufs de la mouche uzi aux produits végétaux et aux huiles. Cependant, divers résultats et observations intéressants faits antérieurement sur les oeufs de différentes espèces d'insectes nous ont conduits à entreprendre la présente expérience pour étudier l'activité ovicide de certaines huiles essentielles sur *Tricholyga bombycis* Beck.

## MATERIELS ET METHODES

Un lot de *Tricholyga bombycis* élevé en laboratoire est conservé dans des boîtes à manche recouvertes de filets d'une dimension de 1 pied cube. Une solution de glucose à 10 % imbibée sur du coton est fournie quotidiennement comme alimentation aux mouches adultes (Sriharan et coll., 1980). On prélève sur ce lot des mouches femelles fécondées depuis quatre à cinq jours pour l'infestation des vers à soie.

L'élevage des vers à soie de la race NB<sub>18</sub> est effectué dans une pièce dont le vestibule est fermé par une porte et les fenêtres recouvertes de toile métallique pour préserver des infestations les vers à

---

\* Directeur (retraité), Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, Inde.

soie destinés à l'expérience. On prélève des larves du quatrième et du cinquième âge dans cette population. Les concentrations voulues (0,1, 0,5 et 1,0 %) d'huile de citron, de citron vert et d'orange sont préparées dans de l'acétone et appliquées séparément à l'aide d'un atomiseur sur le corps des vers à soie à raison de 5 ml pour 100 larves.

On vaporise chaque huile essentielle dans des concentrations de 0,1, 0,5 et 1,0 % sur trois lots de larves infestées par des oeufs pondus depuis 1, 12 et 24 heures. Ces concentrations sont également appliquées sur des vers sains qu'on expose à l'infestation une heure après le traitement.

Deux lots témoins traités et non traités à l'acétone sont maintenus en même temps que les lots traités. Pour chaque traitement, on utilise cinq réplicats de 100 larves chacun et on recueille les données d'éclosion des oeufs uzi en comptant le nombre de cicatrices observées sur les corps des vers à soie. L'expérience est réalisée à une température moyenne de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $78 \pm 8\%$ . Les données sont analysées statistiquement et les comparaisons sont faites à un seuil de signification de 5 % (Fisher et Yates, 1982).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux I et II. Les données recueillies indiquent que les concentrations élevées des différentes huiles essentielles entraînent de manière significative l'effet ovicide sur tous les âges des oeufs uzi.

On observe également que les diverses concentrations de ces huiles essentielles réduisent fortement le taux d'éclosion par rapport aux deux témoins quand les vers à soie sont traités 1, 12 et 24 heures après infestation par la mouche uzi (Tableau I). L'huile de citron est nettement plus efficace que les huiles de citron vert et d'orange. De même, l'huile de citron vert a un effet ovicide beaucoup plus marqué que l'huile d'orange. Cependant, la concentration d'huile de citron à 1 % est tout à fait efficace sur tous les oeufs uzi quel que soit leur âge, le taux d'éclosion se situant entre 0 et 2,38 % contre 88,58 à 93,21 % chez les témoins (Tableau I).

Les données présentées dans le tableau II indiquent que ces huiles sont moins efficaces (le taux d'éclosion variant de 46,42 à 90,42 %) quand elles sont appliquées sur des vers à soie sains exposés à l'infestation une heure plus tard, que lorsque les vers sont d'abord infestés puis traités une heure après l'infestation, le taux d'éclosion variant alors de 0,00 à 73,48 % (Tableau I).

On remarque que la couleur des oeufs traités aux différentes concentrations d'huiles essentielles passe du blanc à l'orange jaunâtre en l'espace d'environ 24 heures, aucun de ces oeufs n'arrivant au stade de l'éclosion. Saxena et coll. (1978) ont observé que, chez certains insectes, les oeufs changeaient de couleur et n'arrivaient pas à éclosion en raison de l'influence de l'huile citrale. Kumar et coll. (1986) ont noté que la couleur des oeufs de *Tricholyga bombycis* passe du blanc crème au marron jaunâtre et n'éclosent pas quand ils sont traités avec de l'acide benzoïque à 1 %.

On note également que le taux d'éclosion augmente en fonction de l'âge auquel sont traités les oeufs (Tableau I). La relation entre l'âge des oeufs et la sensibilité aux différentes huiles essentielles est en conformité avec les résultats de Salkeld et Potter (1953) qui montrent que la sensibilité d'un oeuf d'insecte à un toxique peut évoluer au cours de son développement embryonnaire.

On ne connaît pas le mécanisme par lequel certaines huiles empêchent les oeufs uzi d'éclore, mais il est possible d'attribuer l'absence d'éclosion à l'une ou l'autre des explications avancées concernant l'action de divers toxiques. Celles-ci s'appuient sur le changement de la perméabilité de la coque de l'oeuf plutôt que sur le changement de la sensibilité embryonnaire (Potter et Tattersfield, 1943), l'interruption de l'échange des gaz à travers la couverture externe de l'oeuf et la pénétration de produits chimiques dans les oeufs provoquant une coagulation du protoplasme ou un dérangement d'une activité hormonale ou enzymatique quelconque se traduisant par une absence d'éclosion des oeufs de différentes espèces d'insectes (Martin, 1936 ; Hoskins, 1940).

# EFFET DE LA SÉLECTION DE MURIERS SUR L'ALIMENTATION DES VERS A SOIE

T. C. FONSECA, J. E. de ALMEIDA & A. da S. FONSECA

Seção de Sericultura, Instituto de Zootecnia, Rua Heitor Penteado, 56, Caixa postal 60, Nova Odessa, São Paulo, Brésil.

*Les effets de l'amélioration du mûrier sur le développement des vers à soie ainsi que son influence sur la production de cocons verts, la coque soyeuse et la richesse soyeuse ont été étudiés.*

**Mots-clés :** *Bombyx mori*, *Morus alba*, soie.

## INTRODUCTION

La culture du mûrier (*Morus alba* L.) a pour but de produire des feuilles pour alimenter le ver à soie (*Bombyx mori* L.). Les feuilles doivent avoir une forte valeur nutritive et leur production doit être synchronisée avec l'élevage du ver à soie.

La valeur nutritive de la feuille de mûrier dépend de la variété, de la saison de récolte, de sa localisation sur la branche, de la région de production, etc. (Yokoyama, 1963). C'est ainsi qu'il existe des programmes d'amélioration visant à obtenir des clones de mûrier de grande production et d'excellente qualité nutritive (Periasamy et Radhakrishnan, 1975).

Jusqu'à ces derniers temps, l'élevage du ver à soie était assuré, dans son cycle complet (de l'oeuf au cocon), par le sériciculteur.

Maintenant, les deux premiers âges, exigeant plus d'attention et des installations appropriées, sont à la charge des instituts producteurs d'oeufs tandis que les sériciculteurs se chargent des trois âges suivants, lorsque les vers consomment davantage de feuilles mais deviennent moins exigeants.

Ainsi, la variété *calabresa*, qui était la plus cultivée de l'Etat de São Paulo en raison de sa résistance, de sa précocité et de ses feuilles tendres de bonne qualité nutritive pour les jeunes vers (Rubia, 1964) est en passe d'être délaissé au profit de clones plus producteurs comme *miura* et *formosa* dans le but d'augmenter la production du mûrier.

Ainsi, l'amélioration du mûrier a réussi dans divers pays. En 1969, Scarpelli a déjà observé une remarquable productivité des cocons au Japon et explique celle-ci principalement par l'utilisation de clones de mûriers bons producteurs de feuilles et de haute qualité.

L'introduction de génotypes sélectionnés comme les clones *Kokuzo*, *Nezumigaesi*, etc., a été utilisée comme alternative pour augmenter la production du mûrier de certains pays comme l'Italie, la Russie et le Brésil (Bianchedi, 1955 ; Erofuv, 1970 ; Fonseca et coll., 1985c).

Cependant, la seule introduction de matériel supérieur ne résoud pas toujours le problème. Au Brésil, par exemple, les clones importés du Japon et développés par greffe n'ont pas été bien acceptés par les sériciculteurs qui étaient déjà habitués au mûrier développé par bouture, méthode plus pratique et moins onéreuse. Ainsi est née la nécessité d'obtenir un matériel conservant les qualités des génotypes importés et une facilité de développement propre aux génotypes adaptés (Fonseca et coll., 1981). Dans ce but, Paolieri a réalisé des sélections sur des matériels venus de croisements artificiels entre les souches introduites et les souches adaptées à notre environnement (Fonseca et coll., 1985b, c).

Cette même stratégie d'amélioration a été utilisée par d'autres chercheurs avec de bon résultats pour l'augmentation de la production de feuilles et pour la croissance des vers et la qualité des cocons (Abdullaev, 1962).

Avec les progrès des techniques scientifiques et l'existence d'agents physiques ou chimiques permettant des mutations est née l'idée de l'induction de mutation comme alternative plausible dans la recherche de génotypes supérieurs. Le clone S54 a été obtenu par cette technique et s'est montré supérieur aux clones locaux (Fujita et Nakajima, 1972).

Dans le programme d'amélioration du mûrier de l'Instituto de Zootecnia, on étudie actuellement, en fonction de leur influence sur la production de cocons frais, la coque soyeuse et la richesse soyeuse, les clones dont la production de feuilles est vraiment supérieure à la moyenne.

## MATERIELS ET METHODES

Ce travail a été élaboré à partir des données obtenues durant des expériences menées en 1985 (avril et octobre), 1986 (mars, novembre et décembre) et 1987 (février). Elles ont été réalisées au Posto Experimental de Limeira (SP), suivant le principe des groupes aléatoires comprenant 6 répétitions et 10 traitements.

Les traitements sont réalisés à partir des clones de mûriers sélectionnés pour leur excellente qualité séricicole et leur bonne production de feuilles : Instituto de Zootecnia 3/2, IZ 13/6, IZ 15/7, IZ 19/13, IZ 56/4, IZ 57/2, IZ 30, IZ 40 (Fonseca et coll., 1986, 1987a, b, c). Pour la comparaison des résultats, deux clones modèles ont servi de témoin : *calabresa* et *catania 1* (Fonseca et coll., 1985a). Le clone *calabresa* est le modèle inférieur et le clone *catania 1* le modèle supérieur. Le but de l'expérience est de déterminer si l'amélioration réalisée est positive (plus proche de la performance du clone *catania 1*) ou négative (plus proche de la performance du clone *calabresa*) pour le poids du cocon, la coque soyeuse et la richesse soyeuse, ces deux clones étant bien connus quant à leurs productions de feuilles et pour leur qualité nutritive (Fonseca et coll., 1976, 1985a).

Les vers sont nourris aux deux premiers âges avec le clone *calabresa*. Au troisième âge, ils sont répartis en lots de 40 vers, mis dans des boîtes de 40 x 50 cm et nourris selon le traitement.

Lorsque les cocons sont prêts, ils sont nettoyés et pesés avec ou sans la chrysalide pour déterminer le poids moyen par lot et calculer la richesse soyeuse.

Des analyses de variances sont ensuite réalisées et les degrés de liberté sont affectés selon le tableau ci-dessous :

| Source de variation                                  | Degré de liberté (DL) |
|------------------------------------------------------|-----------------------|
| <i>Calabresa</i> par rapport aux clones sélectionnés | 1                     |
| <i>Catania 1</i> par rapport aux clones sélectionnés | 1                     |
| Entre les clones sélectionnés                        | 7                     |
| (Traitements)                                        | (9)                   |

Une analyse de corrélation entre les trois caractères est également réalisée.  
Le seuil de signification adopté est 5 % de probabilité.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le résumé des analyses de variance pour les trois caractères : poids du cocon, poids de la coque soyeuse et richesse soyeuse, apparaît dans le tableau I. Les analyses de variance démontrent qu'il existe des différences significatives pour les trois caractères. Ceci indique qu'ils présentent une variabilité et qu'il est possible de réussir une sélection.

**Tableau I. Résumé des analyses de variance dans les expériences pour les trois caractères : A = poids du cocon, B = poids de la coque et C = richesse soyeuse.**

*Table I. Summary of the analyses of variance in the experiments for the three characters : A = cocoon weight, B = shell weight, C = silk ratio.*

| Source de variation<br><i>Source of variation</i>                       | DL<br><i>DF</i> | Carrés moyens / <i>Mean squares</i> |          |          |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------|----------|
|                                                                         |                 | A                                   | B        | C        |
| Calabresa et clones sélectionnés<br><i>Calabresa vs selected clones</i> | 1               | 1,1155**                            | 0,0716** | 2,6637ns |
| Catania 1 et clones sélectionnés<br><i>Catania 1 vs selected clones</i> | 1               | 0,0604**                            | 0,0030** | 0,0778ns |
| Entre clones sélectionnés<br><i>Between selected clones</i>             | 7               | 0,1554**                            | 0,107**  | 2,5401** |
| (Traitement) / <i>(Treatment)</i>                                       | (9)             | (0,2516)                            | (0,0166) | (2,2803) |
| Reliquat / <i>Residue</i>                                               | 295             | 0,0057                              | 0,0003   | 0,8187   |

**Tableau II. Moyennes obtenues pour les différents caractères : A = poids du cocon (g), B = poids de la coque (g) et C = richesse soyeuse (%) au cours des six expériences et résultats du test Tukey (5 %) effectué entre les caractères.**

*Table II. Mean values for the following characters : A = cocoon weight (g), B = shell weight (g) and C = silk ratio (%) obtained during the six experiments and results of the Tukey test (5 %) carried out on the characters.*

| Expérience / <i>Experiment</i>   | A       | B       | C         |
|----------------------------------|---------|---------|-----------|
| Avril 85 / <i>April 85</i>       | 1,955 a | 0,440 b | 22,481 c  |
| Octobre 85 / <i>October 85</i>   | 1,610 b | 0,391 c | 24,153 a  |
| Mars 86 / <i>March 86</i>        | 1,638 b | 0,349 d | 21,307 d  |
| Novembre 86 / <i>November 86</i> | 1,446 c | 0,344 d | 23,648 ab |
| Décembre 86 / <i>December 86</i> | 2,980 a | 0,455 a | 23,170 bc |
| Février 87 / <i>February 87</i>  | 2,000 a | 0,434 b | 21,566 d  |
| dms 5 %                          | 0,144   | 0,009   | 0,746     |
| Moyenne / <i>Mean</i>            | 1,771   | 0,402   | 22,711    |
| CV %                             | 4,27    | 4,41    | 3,98      |

Les moyennes suivies de la même lettre sur une colonne ne diffèrent pas entre elles par le test Tukey.

*The mean values followed by the same letter on one column do not differ between one another according to the Tukey test.*

Dans le tableau II apparaissent les moyennes obtenues pour les trois caractères dans les essais ainsi que les résultats du test Tukey. On observe que les essais diffèrent entre eux ( $p < 0,05$ ) pour les trois caractères. Cependant, ceci ne peut être attribué uniquement à la période des essais car les souches de vers à soie étudiées sont des hybrides commerciaux utilisés dans l'industrie privée et, comme nous n'avons pas de témoin, la variabilité des essais peut être due à l'effet de la race comme cela a été constaté par Tayade et Jowale (1984) qui ont observé, en étudiant diverses races de vers à soie, des différences entre celles-ci pour le poids du cocon et la richesse soyeuse.

Dans le tableau III sont présentés les coefficients de corrélation obtenus entre les trois caractères et les résultats du test T. On observe, entre le poids du cocon et la richesse soyeuse, une corrélation très faible et négative. Par ailleurs, le poids du cocon et le poids de la coque soyeuse présentent une corrélation élevée et positive, ce qui indique que le poids du cocon reflète fidèlement la production de fil de soie.

Si l'on considère que la richesse soyeuse est, en pourcentage, le quotient du poids de la coque sur le poids du cocon, les valeurs élevées peuvent être dues au poids important de la coque soyeuse, ce qui est très souhaitable, ou au faible poids de la chrysalide, ce qui peut provenir de problèmes nutritifs chez l'insecte.

**Tableau III. Corrélation entre les trois caractères : A = poids du cocon, B = poids de la coque et C = richesse soyeuse et sa signification par le test t.**

*Table III. Correlation between the three characters, A = cocoon weight, B = shell weight and C = silk ratio and its significance according to t test.*

| Paires de variables<br><i>Paired variables</i> | Coefficient de corrélation<br><i>Correlation coefficient</i> | t<br><i>t</i> |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------|
| A et C / A vs C                                | - 0,2046                                                     | 0,00026       |
| A et B / A vs B                                | 0,9146                                                       | 0,00001       |
| B et C / B vs C                                | 0,1730                                                       | 0,00137       |

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Tayade et Jawale (1984), qui, par nourrissage de races différentes de vers à soie avec un matériel génétique varié, ont obtenu une plus grande production de cocons avec les mûriers sélectionnés, mais n'ont pas constaté de différences dans la richesse soyeuse ; ils concordent cependant avec ceux de Adbullaev (1962), qui, à partir d'un matériel génétique sélectionné, a obtenu une variation dans la production de soie, suggérant ainsi que l'amélioration du mûrier peut conduire à une augmentation de la richesse soyeuse.

La performance des clones sélectionnés est intermédiaire par rapport à celle des clones modèles. Bien qu'en moyenne les clones sélectionnés n'aient pas atteint le niveau du clone *catania 1*, ces résultats sont satisfaisants si l'on considère leurs qualités agronomiques, principalement la facilité de reproduction végétative, ce qui n'est pas le cas pour *catania 1*. De plus, les clones sélectionnés dépassent de beaucoup le clone *calabresa* (tableau IV).

En chiffre absolu, les clones sélectionnés ont donné, en moyenne, une augmentation de 11 % du poids du cocon par rapport au clone *calabresa*, ce qui confirme les résultats obtenus par Bianchedi (1955) et Fujito et Nakajima (1972) qui ont montré que l'amélioration des variétés induit une meilleure production de cocons.

On observe que les clones IZ-40 et IZ-15/7, qui donnent les valeurs de richesse soyeuse les plus élevées, ne diffèrent pas pour le poids de la coque entre eux ni par rapport aux producteurs les plus

performants. Ils présentent toutefois un poids du cocon peu élevé, ce qui suggère que les larves nourries avec ce matériel se développent moins.

**Tableau IV. Moyennes obtenues dans les six expériences pour les trois caractères et résultats du test Tukey entre les clones sélectionnés.**

*Table IV. Mean values obtained in the six experiments for the three characters and results of the Tukey test between the clones selected.*

| Clones<br><i>Clones</i>                                               | Poids du cocon<br><i>Cocoon weight</i> | Poids de la coque<br><i>Shell weight</i> | Richesse soyeuse<br><i>Silk ratio</i> |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|
| IZ 3/2                                                                | 1,844 (115) a                          | 0,415 (115,3) a                          | 22,594 (100,6) ab                     |
| IZ 13/6                                                               | 1,833 (114) b                          | 0,418 (116,1) a                          | 22,881 (101,9) ab                     |
| IZ 15/7                                                               | 1,818 (113) c                          | 0,415 (115,3) a                          | 22,944 (102,2) a                      |
| IZ 19/13                                                              | 1,822 (114) c                          | 0,413 (114,4) a                          | 22,555 (100,4) ab                     |
| IZ 56/4                                                               | 1,789 (112) d                          | 0,410 (113,9) a                          | 22,692 (101,1) ab                     |
| IZ 57/2                                                               | 1,651 (103) g                          | 0,367 (101,9) c                          | 22,239 (99,0) b                       |
| IZ 30                                                                 | 1,722 (107) f                          | 0,394 (109,4) b                          | 22,931 (102,1) a                      |
| IZ 40                                                                 | 1,791 (112) e                          | 0,413 (114,7) a                          | 23,036 (102,6) a                      |
| <i>Calabresa</i>                                                      | 1,604 (100)                            | 0,360 (100,0)                            | 22,453 (100,0)                        |
| <i>Catania I</i>                                                      | 1,828 (114)                            | 0,415 (115,3)                            | 22,783 (101,5)                        |
| Moyenne totale / <i>Total average</i>                                 | 1,771                                  | 0,402                                    | 22,711                                |
| Moyenne des clones sélectionnés<br><i>Mean of the clones selected</i> | 1,785                                  | 0,406                                    | 22,734                                |
| dms 5 % (Tukey)                                                       | 0,004                                  | 0,013                                    | 0,650                                 |

\* Les moyennes suivies de la même lettre sur une colonne ne diffèrent pas entre elles par le test Tukey / *The mean values followed by the same letter on one column do not differ between each other according to the Tukey test.*

\*\* dms = différence minimum significative / *minimum significant difference.*

Aux vues de ces résultats et étant donné la forte corrélation avec le poids réel de la soie (poids de la coque), on peut penser que le poids du cocon est le paramètre le plus approprié pour évaluer les variétés de mûrier en fonction de leur effet nutritionnel.

On peut ainsi conclure que, parmi les différents clones étudiés, IZ-3/2 est le clone le plus performant, car il donne un poids du cocon significativement supérieur et ne diverge pas pour les autres caractères par rapport aux clones les meilleurs.

L'amélioration réalisée sur le mûrier a été efficace dans la production de clones supérieurs, lesquels donnent une augmentation moyenne de 11 % du poids du cocon et de 12,6 % du poids de la coque soyeuse par rapport à la variété *calabresa*.

## REFERENCES

- ABDULLAEV I.K., GASANOV D.O., IMANKULVER S.D. (1962), Hybrid mulberry in Azerbaijan and its importance in breeding. Plant Breed. Abst., 32, 51313.
- BIANCHEDI A. (1955), The new kokuzo varieties of Japanese mulberry. G. Agric. Domin., Italy, 39, 582.
- EROFUV G.V. (1970), Trials of foreign mulberry varieties in the middle reaches of the Amur-Dar-Ja. Plant. Breed. Abstr., 40, 5985.
- FONSECA T.C., VENCOSKY R. (1981), Estimação de parâmetros visando a seleção de híbridos artificiais de amoreira, *Morus alba* L. B. indust. anim. (Dissertação de mestrado), Nova Odessa, 38(1), 85-105.
- FONSECA A.S., PAOLIERI L., FONSECA T.C., CAMPOS B.E.S. (1975), Competição de variedades de amoreira. B. indust. anim., Nova Odessa, 33(2), 319-325.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985a), Caracterização de almugas variedades de amoreira. Zootecnia, Nova Odessa, 23(2), 199-129.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985b), Híbridos naturais de amoreira. B. indust. anim., Nova Odessa, 42(1), 71-77.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985c), Melhoramento da amoreira por meio da hibridação artificial. B. indust. anim., Nova Odessa, 42(2), 265-276.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1986), Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. B. indust. anim., Nova Odessa, 43(2), 367-373.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987a), Competição de híbridos artificiais de amoreira. II. B. indust. anim., Nova Odessa, 44(2), 315-322.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987b), Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. III. B. indust. anim., Nova Odessa, 44(2), 323-328.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987c), Competição de variedades, híbridos naturais e artificiais de amoreira. IV. B. indust. anim., Nova Odessa, 44(2), 329-334.
- FUJITA H., NAKAJIMA K. (1972), Retreatment of induced mulberry mutants with gamma rays. Japan J. Breed., 22, 107-108.
- PERIASAMY K., RADHAKRISHNAN B. (1985), A quantitative study of food utilization and silk production in *Bombyx mori* L. for evaluation of superior varieties of mulberry. Sericologia, 25(4), 491-500.
- RUBIA A.C. (1964), Variedades de amoreira e seu emprego na criação do bicho-da-seda. R. Agr., 39, 83-87.
- SCARPELLI E. (1969), Viagem à Itália e Japão. Serviço de Sericultura, Campinas, 53.
- TAYADE D.S., JAWALE M.D. (1984), Studies on the comparative performance of silkworm races against different varieties of mulberry under Marathwada conditions. Sericologia, 24(3), 361-364.
- YOKOYAMA T. (1963), Sericulture. Ann. Rev. Entomol., 8, 287-298.

# EFFECT OF MULBERRY SELECTION ON SILKWORM FEEDING

T.C. FONSECA, J.E. de ALMEIDA & A. da S. FONSECA

Seção de Sericultura, Instituto de Zootecnia, Rua Heitor Penteado, 56, Caixa postal 60, Nova Odessa, São Paulo, Brazil.

*The effects of mulberry improvement on the silkworm development and its influence on fresh cocoon production, cocoon shell and silk ratio were studied.*

**Keywords :** *Bombyx mori*, *Morus alba*, silk.

## INTRODUCTION

Mulberry (*Morus alba* L.) cultivation aims at producing leaves for feeding the silkworm (*Bombyx mori*). The leaves should have a high nutritional value and their production be synchronized with the rearing of silkworms.

The nutritional value of mulberry leaves depends on the variety, harvesting season, its location on the branch, region of production, etc. (Yokoyama, 1963). Many improvement programmes therefore exist which aim at obtaining mulberry clones with a high yield and excellent nutritional quality (Periasamy and Radhakrishnan, 1975).

Until recently, the entire cycle (from the egg to the cocoon) of the silkworm rearing was carried out by sericulturists.

Now, the first two instars, requiring more care and appropriate equipments, are ensured by the egg-producing institutes while sericulturists take on the following three instars when the larvae consume more leaves but become less demanding.

Thus the variety, *calabresa*, which was the most cultivated one in the State of São Paulo because of its resistance, its earliness and its tender leaves suitable for the young larvae owing to their good nutritional quality (Rubia, 1964) is poised to be discarded for more productive clones such as *miura* and *formosa* in order to increase mulberry production.

Mulberry improvement has thus succeeded in various countries. In 1968, Scarpelli already observed the remarkable productivity of cocoons in Japan and suggested that this might be accounted for by the use of mulberry clones with a good and high quality leaf productivity.

The introduction of selected genotypes such as *Kokuso*, *Nezumigaesi*, etc., was used as an alternative to increase mulberry production in some countries like Italy, Russia and Brazil (Bianchedi, 1955 ; Erofuv, 1970 ; Fonseca *et al.*, 1985c).

However, the introduction of superior material only does not always solve the problem. In Brazil, for instance, the clones imported from Japan and propagated by grafting have not been well accepted by sericulturists who were already accustomed to mulberries propagated by cutting, more practical and cheaper a method. In view of this it became necessary to obtain a material which preserved the qualities of the imported genotypes and a readiness of propagation proper to the genotypes adapted (Fonseca *et al.*, 1981). To this end, Paolieri carried out selections from materials derived from artificial crossings between the strains introduced and the strains adapted to our environment (Fonseca *et al.*, 1985b, c).

The same improvement strategy was used by other researchers who obtained positive results for leaf yield increase and for larval growth as well as cocoon quality (Abdullaev, 1962).

The progress of scientific technics and the existence of physical or chemical mutationists gave rise to the idea of induced mutation as a plausible alternative in the research of superior genotypes. Clone S54 was obtained using this method and showed superior to the local clones (Fujita and Nakajima, 1972).

In the context of the mulberry improvement programme of the Instituto de Zootecnia, clones whose leaf yield is much higher than average are now studied in relation to their influence on fresh cocoon production, cocoon shell and silk ratio.

## MATERIALS AND METHODS

This study was developed on the basis of the data obtained during experiments conducted in 1985 (April and October), 1986 (March, November and December) and 1987 (February). They were carried out at the Posto Experimental de Limeira (SP), following the randomized block design which contained 6 replications and 10 treatments. The treatments were performed from mulberry clones selected for their excellent sericultural quality and their good leaf yield : Instituto de Zootecnia 3/2, IZ 13/6, IZ 15/7, IZ 19/13, IZ 56/4, IZ 57/2, IZ 30, IZ 40 (Fonseca *et al.*, 1986, 1987a, b, c). Two clones served as control for the comparison of the results : *calabresa* and *catania 1* (Fonseca *et al.*, 1985a). The *calabresa* clone was the inferior control and the *catania 1* clone the superior one. The experiment aimed at determining whether the improvement achieved was positive (closer to the yield of *catania 1*) or negative (closer to the yield of *calabresa*) for cocoon weight, cocoon shell and silk ratio, the leaf yield and nutritive value of both these clones being well known (Fonseca *et al.*, 1976, 1985a).

The silkworms were fed on *calabresa* during the first two instars. In the third instar, they were grouped in batches of 40 larvae, in boxes of 40 × 50 cm and fed according to treatment.

When ready, the cocoons were cleaned and weighed with or without the pupa to determine the average weight per batch and calculate the silk ratio.

Analyses of variance were then carried out and the degrees of freedom were allocated as per the table below,

| Source of variation                 | Degree of freedom (DF) |
|-------------------------------------|------------------------|
| <i>Calabresa</i> vs selected clones | 1                      |
| <i>Catania 1</i> vs selected clones | 1                      |
| Between selected clones             | 7                      |
| (Treatments)                        | (9)                    |

A correlation analysis between the three characters was also carried out. The significant limit was chosen at  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The summary of the analyses of variance for the three characters (cocoon weight, shell weight and silk ratio) is given in table I. The analyses of variance show that significant differences exist for the three characters. This suggests that they present a variability and that a selection can be successfully carried out.

Table II gives the means obtained for the three characters during the experiments as well as the results of the Tukey test. It appears that the tests differ between them ( $p < 0.05$ ) for the three characters.

However this cannot be attributed solely to the test period because the silkworm strains studied are commercial hybrids used in private industry and, as we have no control, the variability of the tests may be due to the breed effect as suggested by Tayade and Jowale (1984) who observed differences between several strains for cocoon weight and silk ratio.

Table III gives the correlation coefficients between the characters and the results of T test. A very low and negative correlation is observed between silk weight and silk ratio. Inversely, cocoon weight and shell weight present a high and positive correlation, which indicates that cocoon weight accurately reflects silk yield.

Assuming that the per cent silk ratio is the quotient of shell weight over cocoon weight, the high values obtained may be due to the substantial weight of the cocoon shell, which is a desired effect, or to the low pupal weight, which may arise from nutritional problems in the insect.

These results differ from those obtained by Tayade and Jawale (1984) who, by feeding different silkworm strains on a varied genetic material, obtained a higher cocoon yield with the mulberries selected, but did not note any difference in the silk ratio. However, they are in conformity with those of Abdullaev (1962) who, from a selected genetic material, obtained a variation in the silk yield, thus suggesting that mulberry improvement can lead to an increase in the silk ratio.

The performance of the selected clones is halfway between that of the control clones. Although on average the clones selected did not reach the level of *catania 1*, these results are satisfactory considering their agronomic qualities, mainly their vegetative propagation ability, which is not the case for *catania 1*. In addition, the clones selected outmatch the *calabresa* clone by far, which confirms the findings of Bianchedi (1955) and Fujito and Nakajima (1962) who demonstrated that the improvement of varieties induced a better cocoon production.

It is observed that clones IZ-40 and IZ-15/7, which give the highest silk ratio values, are not different between each other for shell weight, nor from the most effective producers. They, however, present a low cocoon weight, which suggests that the larvae fed on this material grow less.

From these results and given the high correlation with the actual silk weight (shell weight), it can be assumed that the cocoon weight is the most suitable parameter to assess the mulberry varieties according to their nutritional effects.

It can thus be concluded that, among the various clones studied, IZ-3/2 is the most effective clone because it yields a significantly higher cocoon weight and does not diverge from the best clones for the other characters.

The improvement thus achieved on the mulberry efficiently produced superior clones, these yield an average increase of 11 % for cocoon weight and 12.6 % for shell weight compared to the *calabresa* variety.

# STUDIES IN THE REPRODUCTIVE BIOLOGY OF MULBERRY. I. SUCROSE, BORON AND GROWTH HORMONE REQUIREMENTS FOR POLLEN GERMINATION AND POLLEN TUBE GROWTH

R. KUMAR\*, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, A.K. JAIN & M.S. JOLLY

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

*Sucrose, boron, IAA and GA requirements for pollen germination and tube growth in seven mulberry varieties (Local, Ber S-1, Ber C-776, Ber S-799, RFS-175 and ACC-165) have been studied. Pollen germination was directly proportional to the concentrations of sucrose and was maximum in 15 % sucrose. However, the optimum sucrose concentration for tube elongation varied with the varieties. The optimum boron requirement for pollen germination was 100 ppm in Var. Local, Ber C-776, Ber S-799 and Ber S-1 but the remaining varieties showed maximum germination at 25 ppm of boron. The tube elongation was also directly proportional to boron concentration in all except one (Ber S-799). ACC-165 gave no response in any of the concentrations of boron. A differential response of pollen grains for germination and tube elongation was observed in IAA treatments. However, 2.5 ppm of GA gave both optimum germination and tube elongation in all the varieties.*

**Keywords :** *Morus*, pollen germination, pollen tube, hormones.

## INTRODUCTION

Information on the reproductive behaviour and floral biology forms the pre-requisite for breeding programme of sexually reproducing crops. Though the mulberry is vegetatively propagated, studies on floral biology in general and pollen fertility, viability and germination still play a vital role in conventional breeding methods like open pollinated hybrid selection, controlled hybridization and polyclonal nursery. The available information is meagre on the various aspects of mulberry floral biology (Das and Katagiri, 1968 ; Das *et al.*, 1970 ; Suhasini *et al.*, 1985). Considering the importance of these aspects an elaborate project has been initiated to generate sufficient information on various aspects of floral biology and reproductive mechanism in the mulberry. In the present communication investigations on the effect of various chemicals involved in pollen germination and tube growth have been reported in some desirable varieties of mulberry.

---

\* For future correspondence : Dr R. Kumar, Regional Sericultural Research Stn., Club Road, Tiniali, Jorhat 785 002 (Assam), India.

## MATERIALS AND METHODS

Seven desirable male varieties namely - Mysore local, RFS-135, RFS-175, Ber S-1, Ber C-776, Ber S-779 and ACC-165 - were taken for the present study. Freshly anthesized anthers were collected between 8.30 and 9.00 am. The pollen germination and tube elongation were tested by hanging drop method in cavity slides. The prepared slides were kept in petridishes lined with a moist filter paper at the bottom for maintaining the humidity (65-70 %). The sugar (sucrose) solutions were of the following concentrations : 2.5, 5.0, 10.0 and 15.00 per cent. Boron (in the form of boric acid) together with 2.5 % sucrose was used in 25, 50 and 100 ppm concentrations. GA<sub>3</sub> and IAA (1, 2.5, and 5 ppm) were also used in the present study. Slides in all the experiments were incubated for 24 hours at the end of which the experiments were observed for pollen germination and tube elongation. Four replicate slides were maintained for all the treatments. The number of germinated and ungerminated grains were counted from 5 microscopic fields chosen randomly per slide. Similarly for pollen tube growth, at least 25 pollen tubes per slide selected randomly were measured. The data were analysed statistically.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table I shows the pollen germination and tube elongation in various concentrations of sucrose and distilled water. Only four varieties (Local, Ber C-776, Ber S-799 and Ber S-1) responded in distilled water. The maximum germination ( $82.7 \pm 2.23$  %) was observed in var. RFS-175 with 15 per cent sucrose. However, the tube elongation was maximum ( $611.45 \pm 59.53$   $\mu$ m) in variety RFS-135 with 2.5 per cent sucrose. The pollen germination was directly proportional to the concentration of sucrose in all except in Ber C-776 where it was maximum in 10 per cent sucrose. In the mulberry, Osawa (1920) found that 30 per cent sugar solution was the best medium for pollen germination. However, Das and Katagiri (1968) reported 90 per cent pollen germination in 2 per cent sugar solution. On the basis of the present study it is concluded that the sugar requirement for pollen germination and tube elongation in this genus varies from variety to variety and is in agreement with the reports of Mukherjee and Das (1964), Kim *et al.* (1985) and Suhasini *et al.* (1985).

Table II indicates the pollen germination and tube growth in three concentrations of boron supplemented with 2.5 per cent sucrose. The pollen germination was not initiated in ACC-165 in any of the concentrations of boron. The highest ( $60.3 \pm 2.66$  %) germination was observed in 50 ppm of boron in var. Ber S-799. However, the bursting of just initiated pollen tube was recorded in var. Ber S-799 in 100 ppm of boron. The pollen germination was directly proportional to the concentration of boron in var. Local, Ber C-776, Ber S-799 and Ber S-1, but in others it was inversely proportional. The tube elongation was also directly proportional to the concentration of boron in all but one (Ber S-799) variety. The boron requirements for pollen germination and tube growth are considered to be indicative of boron levels in the plants (Vasil, 1964). However, several functions of boron in the pollen germination are suggested. (i) The formation of sugarborate complexes which allow increased absorption, translocation and metabolism of sugars (Vasil, 1964). (ii) The synthesis of pectin materials for the wall of actively growing pollen tubes (Stanley and Loewas, 1964). (iii) Increase oxygen uptake by pollen (O'Kelley, 1957). However, O'Kelley further suggested that boron has a specific role in the pollen tube growth in addition to the stimulating effect on oxygen uptake and sugar absorption. However, the physiological mechanisms associated with the boron effect on the pollen germination process are complex and little understood.

The response of pollen germination and tube growth in various concentrations of IAA and GA is presented in Table III. The pollen germination was maximum in vars. RFS-135, Ber S-1 and ACC-165 (1 ppm) in vars. Ber C-776 and RFS-175 at 2.5 ppm and in varieties Local and Ber S-799 at 5 ppm of IAA. Pollen tube elongation was maximum ( $385.84 \pm 35.15$ ) in var. RFS-175 in 5 ppm of IAA. The stimulation in tube growth by IAA has been reported earlier in *Dianthus caryophyllus* (Kumar and Singh, 1985). The differential response of the pollen grains to IAA in the present study

**Table I. Showing pollen germination and tube elongation in various concentrations of sucrose and distilled water in seven varieties of mulberry.**

**Tableau I. Germination du pollen et allongement du tube à diverses concentrations de sucrose et d'eau distillée chez sept variétés de mûriers.**

| Sucrose %<br>Saccharose (%)      |    | Local          | RFS-135        | RFS-175        | Ber C-776     | Ber S-799      | Ber S-1        | ACC-165        |
|----------------------------------|----|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| Distilled water<br>Eau distillée | PG | 1.9 ± 0.93     | 0.0 ± 0.0      | 0.0 ± 0.0      | 2.15 ± 0.9    | 3.23 ± 1.1     | 3.4 ± 0.9      | 0.0 ± 0.0      |
|                                  | PT | 40.15 ± 2.11   | 0.0 ± 0.0      | 0.0 ± 0.0      | 25.61 ± 2.15  | 70.01 ± 5.19   | 35.55 ± 2.19   | 0.0 ± 0.0      |
| 2.5                              | PG | 11.2 ± 1.74    | 10.8 ± 1.78    | 9.38 ± 1.25    | 22.25 ± 12.53 | 20. ± 2.78     | 6.2 ± 0.69     | 2.4 ± 0.9      |
|                                  | PT | 87.11 ± 7.66   | 611.45 ± 59.53 | 133.91 ± 13.81 | 34.39 ± 4.91  | 76.43 ± 6.59   | 36.89 ± 3.70   | 50.83 ± 12.61  |
| 5.0                              | PG | 16.3 ± 1.73    | 11.15 ± 1.21   | 9.56 ± 1.04    | 32.5 ± 3.25   | 39.4 ± 3.69    | 6.7 ± 0.51     | 6.18 ± 1.11    |
|                                  | PT | 146.76 ± 2.24  | 284.64 ± 26.75 | 200.54 ± 12.56 | 141.24 ± 6.15 | 191.34 ± 22.94 | 42.22 ± 2.48   | 87.14 ± 9.15   |
| 10.00                            | PG | 20.6 ± 1.5     | 13.6 ± 1.4     | 18.1 ± 1.55    | 42.13 ± 2.15  | 41.7 ± 3.65    | 10.3 ± 1.10    | 9.1 ± 1.14     |
|                                  | PT | 362.58 ± 25.51 | 49.81 ± 3.45   | 247.83 ± 10.44 | 67.15 ± 3.15  | 149.44 ± 5.7   | 107.46 ± 5.97  | 95.0 ± 6.07    |
| 15.00                            | PG | 61.53 ± 3.5    | 17.24 ± 0.51   | 82.70 ± 2.23   | 39.14 ± 1.25  | 49.57 ± 2.91   | 31.87 ± 2.13   | 64.44 ± 2.13   |
|                                  | PT | 159.12 ± 20.15 | 45.18 ± 3.15   | 145.6 ± 10.15  | 37.15 ± 4.12  | 102.34 ± 8.15  | 111.28 ± 18.17 | 133.12 ± 10.01 |

PG = Pollen germination (%) / *Pourcentage de germination du pollen.*

PT = Pollen tube length (µm) / *Longueur du tube pollinique (µm).*

± indicates standard deviation / *indique l'écart type.*

Table II. Effect of boron on pollen germination and pollen tube growth in mulberry varieties.

*Tableau II. Effet du bore sur la germination du pollen et la croissance du tube pollinique chez diverses variétés de mûriers.*

| Boric acid<br>ppm<br><i>Acide borique<br/>ppm</i> |    | Local          | RFS-135        | RFS-175        | Ber C-776    | Ber S-799      | Ber S-1       | ACC-165 |
|---------------------------------------------------|----|----------------|----------------|----------------|--------------|----------------|---------------|---------|
| 25                                                | PG | 9.2 ± 1.12     | 23.9 ± 1.10    | 10.3 ± 1.22    | 0.5 ± 0.31   | 13.8 ± 0.56    | 8.4 ± 1.02    | 0.0     |
|                                                   | PT | 88.01 ± 5.07   | 271.99 ± 23.3  | 147.4 ± 15.82  | 15.81 ± 3.95 | 180.96 ± 10.99 | 92.59 ± 6.06  | ± 0.0   |
| 50                                                | PG | 19.2 ± 2.0     | 9.2 ± 1.5      | 10.0 ± 1.21    | 2.0 ± 0.48   | 60.3 ± 2.66    | 10.4 ± 0.93   | 0.0     |
|                                                   | PT | 126.22 ± 8.67  | 391.38 ± 35.1  | 277.23 ± 43.93 | 21.35 ± 2.37 | 64.49 ± 4.75   | 130.46 ± 7.86 | ± 0.0   |
| 100                                               | PG | 29.2 ± 2.66    | 4.1 ± 0.42     | 9.6 ± 1.83     | 2.7 ± 0.66   | *              | 19.4 ± 0.74   | 0.0     |
|                                                   | PT | 196.95 ± 11.61 | 520.65 ± 52.58 | 286.85 ± 26.06 | 22.95 ± 2.15 | *              | 138.76 ± 8.89 | ± 0.0   |

\* Pollen grains burst / *Grains de pollen éclatés.*

Table III. Effect of various concentrations of IAA and GA<sub>3</sub> on pollen germination and pollen tube growth in different mulberry varieties.

*Tableau III. Effet de diverses concentrations d'IAA et d'AG<sub>3</sub> sur la germination du pollen et la croissance du tube pollinique chez diverses variétés de mûriers.*

| Concentrations (ppm)<br>Concentrations (ppm) |    | Local        | RFS-135        | RFS-175        | Ber C-776      | Ber S-799      | Ber S-1        | ACC-165        |
|----------------------------------------------|----|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| IAA                                          | PG | 1.62 ± 0.3   | 41.20 ± 3.15   | 19.14 ± 1.91   | 16.96 ± 1.15   | 19.40 ± 2.15   | 52.59 ± 3.15   | 26.02 ± 1.08   |
| IAA                                          | PT | 10.4 ± 2.5   | 257.92 ± 20.16 | 171.6 ± 20.16  | 31.2 ± 5.15    | 71.85 ± 8.18   | 133.12 ± 18.17 | 126.69 ± 25.16 |
| 2.5                                          | PG | 10.06 ± 1.15 | 26.38 ± 2.28   | 26.35 ± 2.0    | 35.07 ± 2.15   | 26.36 ± 1.15   | 31.11 ± 1.12   | 23.54 ± 1.39   |
|                                              | PT | 22.28 ± 4.16 | 92.65 ± 8.16   | 131.04 ± 25.54 | 33.28 ± 4.13   | 161.2 ± 20.25  | 130.0 ± 20.16  | 106.06 ± 15.16 |
| 5.0                                          | PG | 12.5 ± 2.1   | 8.29 ± 1.15    | 25.27 ± 2.35   | 27.16 ± 1.12   | 35.25 ± 2.35   | 16.48 ± 1.05   | 21.49 ± 1.98   |
|                                              | PT | 15.6 ± 2.51  | 43.49 ± 5.15   | 385.84 ± 35.15 | 19.76 ± 5.16   | 124.8 ± 15.15  | 47.27 ± 6.15   | 48.88 ± 6.16   |
| GA <sub>3</sub>                              | PG | 10.0 ± 1.15  | 20.70 ± 1.32   | 17.06 ± 1.35   | 16.31 ± 1.13   | 29.06 ± 2.05   | 53.12 ± 3.15   | 23.52 ± 0.99   |
| AG <sub>3</sub>                              | PT | 18.72 ± 5.16 | 84.14 ± 15.15  | 176.8 ± 25.16  | 17.01 ± 3.15   | 123.70 ± 10.01 | 271.44 ± 30.15 | 81.12 ± 15.15  |
| 2.5                                          | PG | 25.78 ± 1.08 | 54.54 ± 2.1    | 26.12 ± 2.15   | 33.52 ± 2.91   | 39.26 ± 2.13   | 55.14 ± 3.9    | 24.04 ± 0.38   |
|                                              | PT | 22.88 ± 4.18 | 296.44 ± 30.15 | 153.92 ± 30.01 | 118.73 ± 18.17 | 237.52 ± 25.16 | 228.8 ± 35.06  | 228.9 ± 30.16  |
| 5.0                                          | PG | 22.88 ± 1.51 | 46.52 ± 3.5    | 22.02 ± 2.01   | 33.49 ± 0.98   | 30.95 ± 1.15   | 20.67 ± 1.57   | 15.76 ± 1.13   |
|                                              | PT | 17.68 ± 4.15 | 206.4 ± 25.15  | 76.96 ± 8.18   | 107.2 ± 16.15  | 195.12 ± 20.61 | 196.56 ± 25.01 | 213.2 ± 31.15  |

is in agreement with those reported in *Cassia* (Yadava, 1980) and *Solanum* (Ravindran and Chauhan, 1986).

Both pollen germination and tube elongation were optimum at 2.5 ppm of GA in all the varieties. This suggests that the maintenance of a critical level of GA is particularly essential for pollen germination and tube elongation. The GA-induced pollen tube elongation is considered to be due to its effect on cell expansion and orientation by newly synthesized microfibrils (Malik and Chhabra, 1976).

## REFERENCES

- DAS B. C., KATAGIRI K. (1968), Germination and storage of mulberry pollen. *Acta Sericologica*, 69, 18.
- DAS B. C., PRASAD D. N., KRISHNASWAMI S. (1970), Studies on anthesis in mulberry. *Indian Seric.*, 9, 59.
- KIM S. K., LAGERSTEDT H. B., DALEY L. S. (1985), Germination response of Filbert pollen to PH, temperature, glucose, fructose and sucrose. *Hort. Sci.*, 20(5), 944.
- KUMAR V., SINGH A. (1985), Growth of pollen tube in *Dianthus caryophyllus*. *J. Indian Bot. Soc.*, 64(1), 93.
- MALIK C. P., CHHABRA N. (1976), Hormonal regulation of pollen germination and pollen tube elongation in *Arachis hypogea* Reitz. *Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B.*, 84, 101.
- MUKERJEE S. K., DAS P. K. (1964), Palynology in horticulture and plant breeding. *In Recent advances in palynology*. (Ed. P.K.K. Nair) p. 305.
- O'KELLEY J. C. (1957), Boron effects on growth oxygen uptake and sugar absorption by germinating pollen. *Am. J. Bot.*, 44, 239.
- OSAWA I. (1920), Cytological and experimental studies in *Morus* with special reference to triploid mutant. *Bull. Imp. Seric. Exp. Stn.*, 1, 318.
- RAVINDRAN S., CHAUHAN Y. S. (1986), Studies in the reproductive biology of alkaloid yielding solanums. *In vitro* responses of pollen grain of *S. khasianum* Cl. and *S. indicum* L. to plant growth hormones. *Acta Botanica Indica*, 14(1), 130.
- STANLEY R. G., LOEWAS F. A. (1964), Boron and myoinositol in pollen pectin biosynthesis, pollen physiology and fertilization. (Ed. Linsken H.F.) p. 128.
- SUHASINI K., SUSHEELAMMA B. N., GIRIDHAR K., RAJU R. (1985), Effect of various media on the germination of mulberry pollen. *Indian J. Seric.*, 24(2), 84.
- VASIL I. K. (1964), Effect of boron on pollen germination and pollen tube growth. *In Pollen physiology and fertilization*. (Ed. by H.F. Linsken) p. 107.
- YADAVA V. B. (1980), Effect of some growth regulators on pollen germination and pollen tube growth in *Cassia tora* L. and *C. obtusifolia* L. *Comp. Physiol. Ecol.*, 5, 165.

# ETUDES SUR LA BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DU MURIER. I. BESOINS EN SACCHAROSE, EN BORE ET EN HORMONE DE CROISSANCE POUR LA GERMINATION DU POLLEN ET LA CROISSANCE DU TUBE POLLINIQUE

R. KUMAR\*, S.B. DANDIN, S. RAVINDRAN, A.K. JAIN & M.S. JOLLY

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

*On a étudié les besoins en saccharose, en bore, en acide indol-acétique (AIA) et en acide gibberellique (AG) pour la germination du pollen et la croissance du tube chez sept variétés de mûrier (Local, Ber S-1, Ber C-776, Ber S-799, RFS-175 et ACC-165). La germination du pollen est directement proportionnelle à la concentration en saccharose et est maximum avec du saccharose à 15 %. Cependant, la concentration en saccharose optimale requise pour l'allongement du tube est différente selon les variétés. La quantité optimale de bore nécessaire à la germination du pollen est de 100 ppm chez les variétés Local, Ber C-776, Ber S-799 et Ber S-1, mais les autres variétés présentent une germination maximale avec 25 ppm de bore. L'allongement du tube est également directement proportionnel à la concentration en bore chez toutes les variétés sauf une (Ber S-799). ACC-17 ne réagit à aucune des concentrations en bore. Les traitements à l'AIA font apparaître des réactions distinctes des grains de pollen pour la germination et l'allongement du tube. Cependant, 2,5 ppm d'AG donnent une germination et un allongement optimaux chez toutes les variétés.*

## INTRODUCTION

La documentation sur le mécanisme de la reproduction et sur la biologie florale constitue la condition préalable à la mise en place d'un programme de culture des plantes se reproduisant sexuellement. Bien que le mûrier soit reproduit de manière végétative, les études sur la biologie florale en général et sur la fertilité du pollen, sa viabilité et sa germination continuent de jouer un rôle primordial dans les méthodes de culture traditionnelles telles que la sélection d'hybrides pollinisés, l'hybridation contrôlée et la pépinière polyclonale. Les informations disponibles sur les divers aspects de la biologie florale du mûrier sont rares (Das et Katagiri, 1968 ; Das et coll., 1970 ; Suhasini et coll., 1985). Compte tenu de l'importance de ces aspects, un projet détaillé a été mis au point pour permettre de réunir suffisamment d'informations sur les divers aspects de la biologie florale et sur le mécanisme de reproduction du mûrier. Cette étude expose les résultats de l'effet de différentes substances chimiques qui interviennent dans la germination pollinique et la croissance du tube chez certaines variétés de mûrier d'intérêt commercial

---

\* Future adresse : Dr K. Kumar, Regional Sericultural Research Stn., Club Road, Tiniali, Jorhat 785 002 (Assam), Inde.

## MATERIELS ET METHODES

Sept variétés mâles d'intérêt commercial, à savoir : Mysore local, RFS-135, RFS-175, Ber-S-1, Ber C-776, Ber S-779 et ACC-165, ont été sélectionnées pour cette étude. Des anthères sont prélevées juste après la floraison entre 8 h 30 et 9 h 00 du matin. La germination pollinique et l'allongement du tube sont testés par la méthode de la goutte pendante sur des lames creuses. Les lames préparées sont conservées dans des boîtes de Pétri dont les fonds sont recouverts d'un papier filtre humide afin d'en préserver l'humidité (65 à 70 %). Les solutions de sucre (saccharose) sont préparées aux concentrations suivantes : 2,5, 5,0, 10,0 et 15 %. Le bore (sous la forme d'acide borique) est utilisé avec du saccharose à 2,5 % dans des concentrations de 25, 50 et 100 ppm. On utilise également le GA<sub>3</sub> et l'AIA (1, 2,5 et 5 ppm). Pour chacune des expériences, les lames sont incubées pendant 24 heures à la fin desquelles on observe la germination pollinique et l'allongement du tube. Quatre lames répliqués sont prévues pour chaque traitement. Le nombre de grains pollinisés ou non est déterminé sur 5 champs microscopiques choisis au hasard sur chaque lame. De même, afin de déterminer la croissance du tube pollinique, on examine au moins 25 tubes polliniques sélectionnés au hasard pour chaque lame. Les données sont analysées statistiquement.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I présente la germination pollinique et l'allongement du tube à diverses concentrations de saccharose et d'eau distillée. Seulement quatre variétés (Local, Ber C-776, Ber S-779 et Ber S-1) réagissent à l'eau distillée. On observe une germination maximale ( $82,7 \pm 2,23$  %) chez la variété RFS-175 avec du saccharose à 15 %. Cependant, l'allongement du tube est maximum ( $611,45 \pm 59,53$  µm) chez la variété RFS-135 avec du saccharose à 2,5 %. La germination pollinique est directement proportionnelle à la concentration en saccharose chez toutes les variétés sauf Ber C-776 où elle est maximale avec du saccharose à 10 %. Osawa (1920) avait découvert que, chez le mûrier, une solution de sucre à 30 % donnait une germination pollinique optimale. Cependant, Das et Katagiri (1968) ont observé une germination pollinique avec une solution de sucre à 2 %. Sur la base des résultats présentés ici, on peut conclure que la quantité de sucre nécessaire à la germination pollinique et à l'allongement du tube chez cette espèce est fonction de la variété, ce qui est conforme aux observations de Mukherjee et Das (1964), Kim et coll. (1985) et Suhasini et coll. (1985).

Le tableau II présente la germination pollinique et la croissance du tube pour trois concentrations de bore additionnées de saccharose à 2,5 %. La germination pollinique n'apparaît pour aucune concentration de bore chez ACC-175. On observe la germination la plus élevée ( $60,3 \pm 2,66$  %) avec 50 ppm de bore chez la variété Ber C-779. Cependant, on observe que le tube pollinique qui vient de germer éclate avec 100 ppm de bore chez la variété Ber S-779. La germination du pollen est directement proportionnelle à la concentration en bore chez les variétés suivantes : Local, Ber C-776, Ber S-779 et Ber S-1, alors qu'elle est inversement proportionnelle chez les autres. L'allongement du tube est également directement proportionnel à la concentration en bore chez toutes les variétés sauf une (Ber S-779). On considère que la quantité de bore nécessaire à la germination du pollen et à la croissance du tube est un indice de la teneur en bore chez les plantes (Vasil, 1964). Cependant, on suggère que le bore joue plusieurs rôles dans la germination du pollen : a) formation de complexes de borates de sucre qui permettent d'augmenter l'assimilation, la translocation et le métabolisme des sucres (Vasil, 1964) ; b) synthèse des matériaux pectiques pour les parois des tubes polliniques en phase de croissance (Stanley et Loewas, 1964) ; c) augmentation de la consommation d'oxygène par le pollen (O'Kelley, 1957). Cependant, O'Kelley a par ailleurs suggéré que le bore joue un rôle spécifique dans la croissance du tube pollinique en plus de son effet stimulant sur la consommation d'oxygène et l'absorption de sucre. Toutefois, les mécanismes physiologiques associés à l'effet du bore sur le processus de germination du pollen sont complexes et mal connus.

La réaction de la germination du pollen et de la croissance du tube obtenues à diverses concentrations d'AIA et d'AG est présentée dans le tableau III. La germination du pollen est maximale chez les variétés RFS-135, Ber S-1 et ACC-16 pour 1 ppm, chez les variétés Ber C-776 et RFS-175 pour 2,5 ppm et chez les variétés Local et Ber S-779 pour 5 ppm d'AIA. La stimulation de la croissance du tube avec l'AIA a déjà été observée chez *Dianthus caryophyllus* (Kumar et Singh, 1985). Les

réactions variables des grains de pollens à l'AIA observées ici corroborent les résultats obtenus chez *Cassia* (Yadava, 1980) et *Solanum* (Ravindran et Chauhan, 1986).

La germination du pollen et l'allongement du tube sont optimaux avec 2,5 ppm d'AG chez toutes les variétés. Ceci suggère qu'il est tout à fait indispensable de maintenir un niveau constant d'AG pour la germination du pollen et l'allongement du tube. On pense que l'allongement du tube induit par l'AG est dû à son effet sur l'expansion des cellules et sur leur orientation par des microfibrilles nouvellement synthétisées (Malik et Chhabra, 1976).

# OVARY-DEPENDENT GENETIC DETERMINATION OF THE EGG SHAPE AND THE YOLK PROTEIN IN THE SMALL-EGG 2 MUTANT OF *BOMBYX MORI*

Y. KAWAGUCHI, H. DOIRA, Y. BANNO & H. FUJII

Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-01, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.

*Mutual transplantations of the ovarian imaginal discs were performed between the fifth instar larvae of the sm-2 and the normal female using the progeny of the cross + +/ch sm-2 × ch sm-2/ch sm-2 as materials. In this cross, the larvae manifesting normal body color (+) are normal egg formers while the reddish brown ch larvae are small and sterile sm-2 egg formers. Normal ovaries implanted into sm-2 hosts developed successfully to produce normal eggs, sm-2 ovaries implanted into normal hosts produced small eggs characteristic to sm-2. The amounts of protein in the eggs which were produced by implanted ovaries were not different from those of the respective control of the normal or sm-2 eggs. Electrophoretic analyses of yolk proteins revealed that no changes in the composition occurred by the transplantation of the ovaries. These results indicate that the development of oocytes to mature eggs are determined by the genotype of the ovary.*

**Keywords :** Ovary-transplantation, *Bombyx mori*, small-egg mutant, yolk protein, haemolymph protein.

## INTRODUCTION

In the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, there have been known fairly numerous mutants whose eggs are spindle-shaped, long-elliptic, large or small. The egg shape is determined in the maternal body before fertilization, it is inherited pseudo-maternally. The arrangement and function of ovarian follicle cells during pupal life determine the shape and structure of the egg shell. Abnormalities in the egg shape reflect defects in the arrangements and/or functional entities of the ovarian follicle cells. The small-egg 2 mutant is controlled by a single recessive gene *sm-2* which is given rise to as a spontaneous mutation on the thirteenth chromosome. The eggs of this mutant are small, lacking proteinaceous large yolk spheres within, neither blastoderm formation nor fertilization take place.

Yolk formation in the *sm-2* mutant was studied histologically. The secretory activity of ovarian follicle cells in this mutant was poorly recognizable, they only secreted lipoidal substances which can never be found in the normal ovaries (Ohtsuki, 1965). The linkage analysis of this mutant gene was performed by Doira *et al.* (1974), the *sm-2* gene was linked with the chocolate (*ch*) gene, a larval body color mutant located on the thirteenth chromosome. This linkage relation of the *sm-2* with the *ch* enables us easy separation between the normal egg formers and the small egg formers during the larval stage prior to the development of oogenesis which takes place after the pupation. To elucidate the mechanism of genetic control in the process of egg formation, we have focused attention on the small egg 2 mutant of *Bombyx mori*. The purpose of this paper is to demonstrate that the shape and the yolk protein composition of eggs are determined by the genotype of the ovarian tissue.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals :

The *Bombyx* stock used in this experiment was the d31 strain which had been maintained at Kyushu University by the cross of the type  $+/ch\ sm-2 \times ch\ sm-2$  (Chikushi, 1972). Full sib females segregated in this cross were used as materials, *ch* homozygotes are characterized by a reddish brown color of the larval body and are also homozygous for *sm-2*, they are small and sterile *sm-2* egg formers. The larvae manifesting a normal body color are heterozygous for both the *ch* and the *sm-2* genes and are normal egg formers. No crossing-over takes place in the females of this species of insect.

### Transplantation of the ovarian imaginal disc :

Mutual transplantation of the ovarian imaginal disc was performed on the second day of the fifth larval instar. The body wall of a previously chilled female larva homozygous for *sm-2* was wounded with a sharp razor at the position of right-spot of paired star markings situated on the eighth segment, thereby right one (from dorsal view) of the paired imaginal discs of the ovary was exposed. Each ovary was grasped with forceps and was cut free to remove. Right one of the ovarian imaginal discs was excised from a normal ( $+/sm-2$ ) female larva in the same way. An undamaged disc from a normal larva washed free of the haemolymph with insect Ringer's solution was implanted into the body cavity of the *sm-2* larva from the position of previously operated. An *sm-2* imaginal disc was transplanted into the normal larva according to the procedures mentioned above. Each recipient surviving the procedure was allowed to go into further development to the emergence.

### Preparation of haemolymph and eggs :

A female moth subjected to ovary-transplantation as a larva was crossed with a normal male moth to lay eggs, mature eggs were also collected from the newly emerged moth by dissection. The haemolymph was collected from the female moths just after the emergence by thrusting a glass capillary at the intersegmental membrane of the abdomen. The sample solution was added with a few crystals of phenylthiourea, and centrifuged at 10,000 g for 15 min. The samples were used immediately after centrifugation or after storage at  $-20^{\circ}\text{C}$  until required for investigations. Protein concentrations of the haemolymph and the yolk were determined by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as a standard.

### Gel electrophoresis :

The electrophoretic analysis of the haemolymph and the yolk protein was carried out on a 6.5 % polyacrylamide disk-gel at pH 9.5 (Kawaguchi and Doira, 1973). The direction of the run was toward the anode. After the migration was complete, the gels were stained for protein in a 0.5 % solution of coomassie brilliant blue R-250 for 1 hr and destained by 7 % acetic acid.

## RESULTS

### 1. Egg shape after the transplantation of the ovaries :

The eggs produced by a normal female and by an *sm-2* female which had survived the ovary-transplantation procedure are shown in Fig. 1. When the host animal was a normal egg former, the eggs in the ovarioles developed from her own ovarian disc (A-a) had a normal size and were significantly larger than those produced by the implanted *sm-2* ovary (A-b) not having different sizes from the control *sm-2* eggs. In the case of reciprocal transplantation, *i.e.*, the host animal was homozygous for *sm-2* and the implanted ovary was excised from a normal animal, the host's ovary produced small eggs (B-c) characteristic to the *sm-2* while the eggs located in the ovarioles developed from the implanted normal ovarian disc were large enough (B-d) as compared to the eggs of non-treated normal animals. These differences in size can be seen more clearly among laid eggs (C, normal host) or those collected separately from the ovarioles of the emerged moth (D, *sm-2* host). When the ovary-transplanted female moths were mated with males and allowed oviposition, the eggs of normal size were fertilized and the embryos within developed to hatch with a few exceptions as is

generally the case in the eggs laid by untreated normal animals, while the small eggs produced by *sm-2* ovaries were not fertilized at all, irrespective of their origins from the host's or implanted ovary.

## 2. Proteins in the eggs obtained through transplantation of the ovaries :

The yolk protein compositions of the eggs derived from ovary-transplanted females and from non-operated control females were analyzed by means of acrylamide disk-gel electrophoresis (Fig. 2). In the eggs of non-operated normal females, normal control, the presence of 4 major components (bands 1, 2, 3, 4) and about 10 minor bands were clearly recognized (column f). Band 1 is the female-specific protein, vitellogenin, which has its origin in the pupal haemolymph. Band 4 is the egg-specific protein, ESP, synthesized in the ovarian follicle cells and is secreted into the oocytes during the development. Column c shows the pattern of the *sm-2* eggs developed in non-operated *sm-2* homozygote, *sm-2* control, all the protein bands including 1-4 major components of the normal control were stained faintly, indicating trace amounts of each. The protein patterns of the eggs derived from females which had been subjected to ovary-transplantation operation are shown in columns a, b, d and e. In the eggs of normal size produced by the normal host's ovary (column a) predominating 1-4 fractions and minor bands were detected similarly to those in the normal control eggs. The pattern of small eggs, while, produced by the *sm-2* ovary implanted into the normal host (column b) was very similar to that of the control *sm-2* eggs, all the fractions existed in traces or much reduced amounts. When the *sm-2* homozygote was used as recipient, small *sm-2* eggs produced by the host's ovary (column d) showed a protein pattern characteristic to the control *sm-2* eggs, as against the pattern of normal size eggs produced by the implanted normal ovary (column e) showed no difference from that of normal control involving 1-4 fractions as majors and the others as minors.

Using the eggs of different origins described above, the contents of yolk proteins were measured by Lowry's method. As is shown in Table I, protein contents in the dechorionized normal size eggs were 40-50 µg/egg showing no significant differences among those obtained from reciprocally ovary-transplanted and control females. The values of the *sm-2* eggs ranged 6-9 µg/egg and again there existed no differences in between.

## 3. Haemolymph proteins of the female moths transplanted ovarian discs as larvae :

The haemolymph protein concentrations of female moths just after emergence are shown in Table II. The value obtained for non-operated *sm-2* homozygotes was 40 mg/ml and four times higher than that of normal control. The protein concentrations of the female moths which had been subjected to ovary-transplantation at the larval stage showed no significant difference between two genotypes of host animals, and the values were intermediate of those of non-operated normal and *sm-2*. Each of the host animals has a pair of ovaries of an intrinsic normal egg forming or a small egg forming one and an exogenous small egg forming or a normal egg forming one, respectively. Two different types of ovaries thus exist equally in both of the operated females of normal and *sm-2* genotypes.

The haemolymph protein patterns of the four different types of female moths mentioned above are shown in Fig. 3. Column A represents the typical pattern of the non-operated female moth having a normal genotype, all of the protein components, including vitellogenin (V), were detected in trace amounts. In the non-operated *sm-2* female, while, large amounts of vitellogenin and some other components were detected (column D). The presence of larger amounts of protein components was similarly recognized in the normal female previously implanted with *sm-2* ovary (column B) and in the *sm-2* female implanted with a normal ovary (column C).

## DISCUSSION

The small-egg 2 mutant produces small and sterile eggs which involve traces of proteinaceous yolk spheres within. It was shown that the function of the nurse cells supplying basophilic proteinous substances to the oocytes during the early development were quite normal in the *sm-2* mutant (Ohtsuki, 1965). The size and number of polygon structures, which reflect the cell boundaries of the ovarian follicular epithelium, on the surface of the *sm-2* eggs were smaller than those of normal eggs. This means that the *sm-2* gene regulates the growth and multiplication of the cells of the ovarian follicles (Kawaguchi *et al.*, 1988a). The concentration of haemolymph protein in *sm-2* females during the

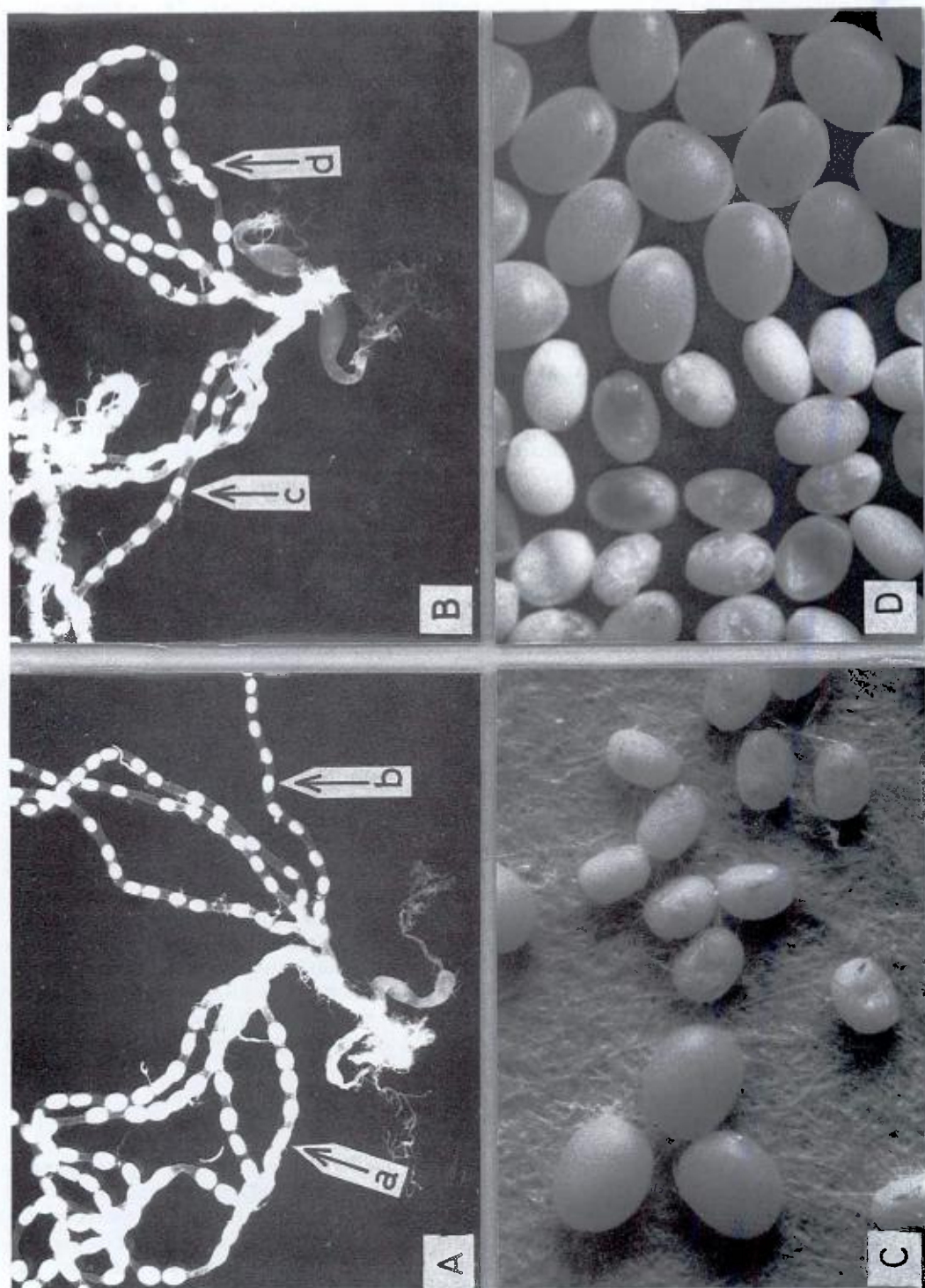


**Fig. 1 : Photograph of the normal and the *sm-2* eggs obtained after reciprocal transplantation of the ovaries.**

One of the paired imaginal discs of the ovary was removed from a small egg forming *ch sm-2* female on day 2 of the fifth larval instar and implanted into a normal egg forming  $+^{ch} +^{sm-2}$  female which had been excised an ovarian disc at the same age (A and C), and *vice-versa* (B and D). **A-a** : ovarioles of normal host. **A-b** : ovarioles of *sm-2* transplant. **B-c** : ovarioles of *sm-2* host. **B-d** : ovarioles of normal transplant. **C** : two types of eggs laid by an *sm-2* host which had received a normal ovary. Small eggs are developed from host *sm-2* ovary and large eggs from implanted normal ovary. **D** : two types of eggs dissected out separately from the ovarioles of the normal host and from the ovarioles of *sm-2* implant after the emergence. Large eggs are developed from the host normal ovary and small eggs from the implanted *sm-2* ovary.

**Fig. 1 : Photographie des oeufs normaux et *sm-2* obtenus après transplantation réciproque des ovaires.**

L'un des disques imaginaux pairs de l'ovaire est prélevé au deuxième jour du cinquième âge larvaire sur une femelle *ch sm-2* formant de petits oeufs et implanté sur une femelle  $+^{ch} +^{sm-2}$  formant des oeufs normaux et sur laquelle on a prélevé un disque ovarien au même âge (A et C), et inversement (B et D). **A-a** : ovarioles de l'hôte normal. **A-b** : ovarioles du transplant *sm-2*. **B-c** : ovarioles de l'hôte *sm-2*. **B-d** : ovarioles du transplant normal. **C** : deux types d'oeufs pondus par un hôte *sm-2* ayant reçu un ovaire normal. Les oeufs de petite taille se développent à partir de l'ovaire *sm-2* de l'hôte et les oeufs de grande taille à partir de l'ovaire normal. **D** : deux types d'oeufs prélevés séparément sur les ovarioles de l'hôte normal et sur les ovarioles de l'implant *sm-2* après l'émergence. Les oeufs de grande taille se développent à partir de l'ovaire normal de l'hôte et les oeufs de petite taille à partir de l'ovaire *sm-2* implanté.

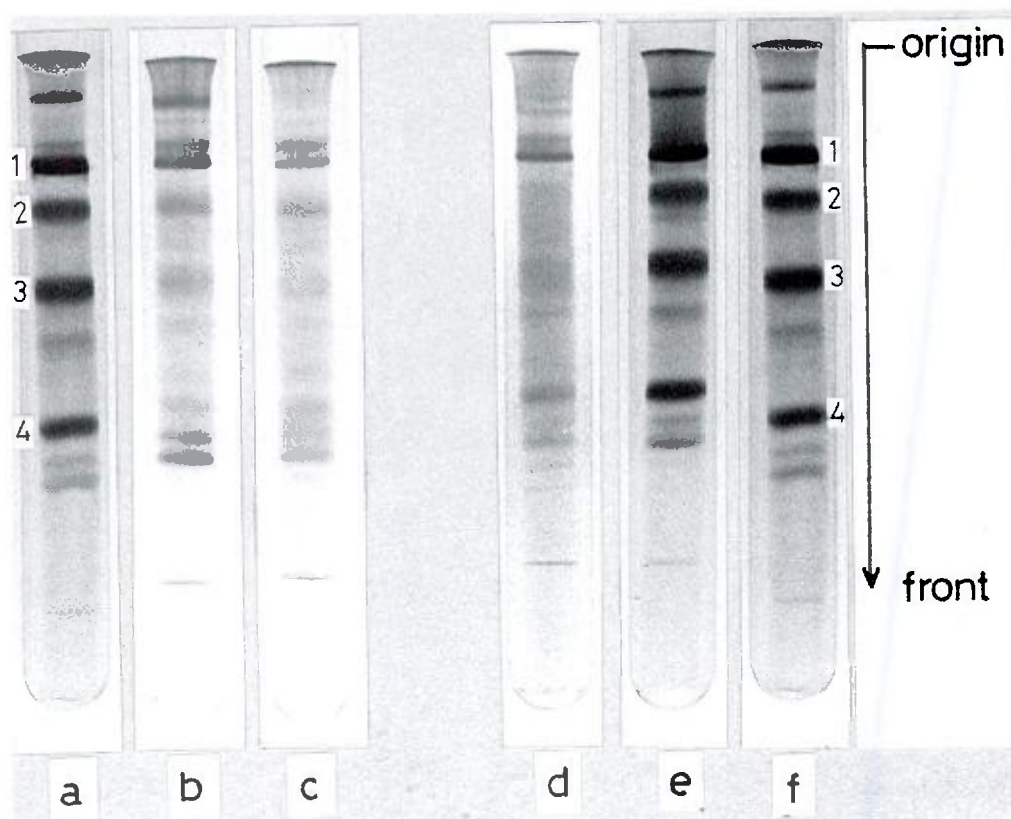


**Fig. 2 : Polyacrylamide disk-gel electrophoresis of yolk proteins of the eggs developed from the host's and the transplanted ovaries.**

**a :** normal eggs developed from the ovary of normal host. **b :** small eggs developed from the implanted *sm-2* ovary. **c :** small eggs of non-operated *sm-2* animal (*sm-2* control). **d :** small eggs developed from the ovary of the *sm-2* host. **e :** normal eggs developed from the implanted normal ovary. **f :** normal eggs of non-operated normal (normal control). Fraction-1 corresponds to vitellogenin and -4 to egg-specific ESP protein.

**Fig. 2 : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide cylindrique des protéines du vitellus des oeufs issus des ovaires de l'hôte et des ovaires transplantés.**

**a :** oeufs normaux issus de l'ovaire de l'hôte normal. **b :** petits oeufs issus de l'ovaire *sm-2* implanté. **c :** petits oeufs de l'insecte *sm-2* n'ayant pas subi d'opération (témoin *sm-2*). **d :** oeufs normaux issus de l'ovaire de l'hôte *sm-2*. **e :** oeufs normaux issus de l'ovaire normal implanté. **f :** oeufs normaux de l'insecte normal n'ayant pas subi d'opération (témoin normal). La fraction 1 correspond à la vitellogénine et la fraction 4 à la protéine ESP spécifique de l'oeuf.

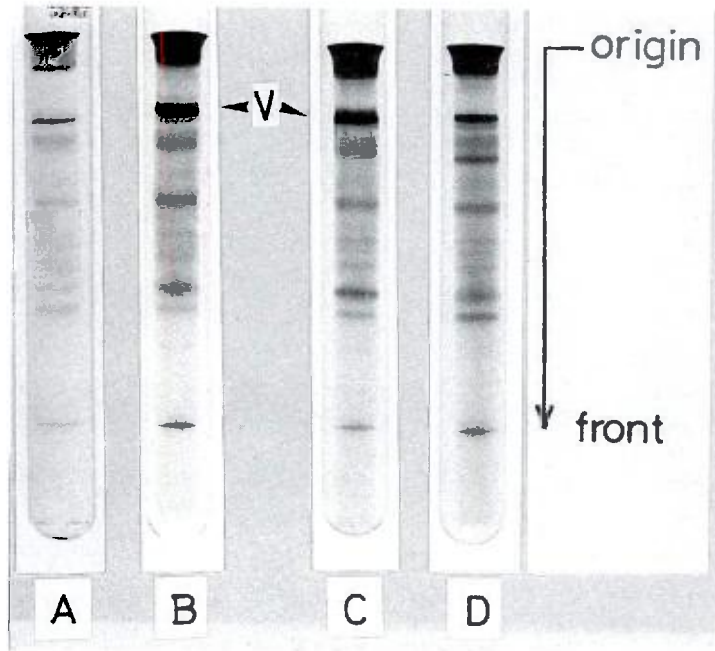


**Fig. 3 : Polyacrylamide disk-gel electrophoresis of haemolymph proteins of the emerged moths.**

A : non-operated female of normal control. B : normal female exchanged as larva one of the ovarian discs with that of *sm-2*. C : *sm-2* female exchanged as larva one of the ovarian discs with that of normal. D : non-operated female of *sm-2* control.

**Fig. 3 : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide cylindrique des protéines des hémolymphes des papillons émergés.**

A : femelle non-opérée du témoin normal. B : femelle normale ayant échangé l'un de ses disques ovariens avec celui d'une femelle *sm-2* au stade larvaire. C : femelle *sm-2* ayant échangé l'un de ses disques ovariens avec celui d'une femelle normale au stade larvaire. D : femelle non-opérée du témoin *sm-2*.

larval stage to the early pupal life throughout closely approximated to the values found in normal females. Female-specific protein of larval type (FL : Doira, 1965 ; same as storage protein 1, Tojo *et al.*, 1980) and that of pupal type (FP, Doira, *loc. cit.*), vitellogenin, were detected in comparable amounts with both the normal and the *sm-2* females. The haemolymph proteins decreased rapidly during the middle and later pupal development and incorporated into the oocytes in the normal females. The proteins transferred from the pupal haemolymph constitute large yolk spheres together with substances from nurse cells and those from follicle cells involving egg-specific ESP protein (Ohtsuki, 1965 ; Kawaguchi and Doira, 1973, 1974 ; Ono *et al.*, 1975 ; Irie and Yamashita, 1983). Decreases in the protein components of the pupal haemolymph did not take place in the *sm-2* mutant, indicating that the *sm-2* gene does not affect the synthesis of vitellogenic haemolymph proteins but induces functional disorder in the protein uptake process through the ovarian follicles (Kawaguchi *et al.*, 1988b).

Table I. Yolk protein contents of the eggs obtained from ovary transplantation.

Tableau I. Contenu en protéines du vitellus des oeufs issus de la transplantation de l'ovaire.

| Transplantation                      | Origin and type of eggs                                                       | Yolk protein content<br>( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )*                               |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Transplantation</i>               | <i>Origine et type des oeufs</i>                                              | <i>Contenu du vitellus en protéines<br/>(<math>\mu\text{g}/\text{oeuf}</math>)*</i> |
| Normal host<br><i>Hôte normal</i>    | Normal eggs from host ovary<br><i>Oeufs normaux de l'ovaire hôte</i>          | 34.8                                                                                |
|                                      | Small eggs from implanted ovary<br><i>Petits oeufs de l'ovaire implanté</i>   | 7.2                                                                                 |
| <i>sm-2</i> host<br><i>Hôte sm-2</i> | Small eggs from host ovary<br><i>Petits oeufs de l'ovaire hôte</i>            | 6.2                                                                                 |
|                                      | Normal eggs from implanted ovary<br><i>Oeufs normaux de l'ovaire implanté</i> | 40.6                                                                                |
| Control<br><i>Témoin</i>             | Normal eggs<br><i>Oeufs normaux</i>                                           | 40.0                                                                                |
|                                      | Small <i>sm-2</i> eggs<br><i>Petits oeufs sm-2</i>                            | 9.0                                                                                 |
|                                      |                                                                               |                                                                                     |

\* Each value is the average of three replicates / Chaque valeur est la moyenne de trois répliquats.

Table II. Protein concentration in the haemolymph of female moth (mg/ml)\*.

Tableau II. Concentration en protéines dans l'hémolymph du papillon femelle (mg/ml)\*.

| Genotype<br>Génotype | Ovary-transplantation<br>Ovaire transplanté | Non-operated control<br>Témoin non opéré |
|----------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|
| Normal               | 19.1                                        | 10.8                                     |
| <i>sm-2</i>          | 23.1                                        | 40.0                                     |

\* Each value is the average of three replicates / Chaque valeur est la moyenne de trois réplicats.

After the emergence, a large amount of haemolymph proteins was existing in the *sm-2* haemolymph as compared with the low values in the normal females. In the haemolymph of the female moths which had been operated as larvae to exchange one of the paired ovaries between normal and *sm-2*, the haemolymph proteins were retained in considerable amounts intermediary between the values obtained in the non-operated animals of normal and *sm-2* moths. As against the values 11 mg/ml and 40 mg/ml in the normal and *sm-2* controls, respectively, the average value of operated animals was 21 mg/ml. A normal ovary produced normal size eggs containing large amounts of yolk protein, while an *sm-2* ovary produced small eggs in which proteins such as vitellogenin were poorly contained. Having a normal and an *sm-2* ovary but not a pair of the same genotype, consumption of haemolymph proteins for yolk formation is averaged in the ovary-transplanted female. These results clearly indicate the vitellogenic role of the haemolymph proteins in oogenesis. The protein uptake into the oocytes are dependent on the genotype of the ovaries. The genotype of the ovaries determines the size and shape of eggs as well. Thus inability of protein uptake and growth to normal size by the *sm-2* oocytes are due to the failure of the ovarian tissue to do so rather than the defects in extra-ovarian environments. Using some other mutants such as *sm*, *ki* and *Ge* (Doira, 1983), the ovary-dependent determination of the egg shape has been demonstrated through mutual transplantation of the ovarian imaginal discs (Kawaguchi and Doira, 1974 ; Kanda *et al.*, 1986 ; Kawaguchi *et al.*, in press).

## REFERENCES

- CHIKUSHI H. (1972), Genes and genetical stocks of the silkworm. Keigaku-shuppan, Tokyo.  
 DOIRA H. (1965), Developmental and sexual differences of blood proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ., 23, 205-214.  
 DOIRA H., KIHARA H., CHIKUSHI H. (1974), Genetical studies of the 'small egg 2' mutant in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 43, 369-372.  
 DOIRA H. (1983), Linkage maps of *Bombyx mori* - Status quo in 1983. Sericologia, 23, 245-269.  
 IRIE K., YAMASHITA O. (1983), Egg-specific protein in the silkworm, *Bombyx mori*: Purification, properties, localization and titre changes during oogenesis and embryogenesis. Insect Biochem., 13, 71-80.  
 KANDA T., TAMURA T., INOUE H., OHTSUKI Y. (1986), A determination of the egg shape and the embryo differences in the kidney-shaped egg mutant of the silkworm, *Bombyx mori*, by the mother's ovary-genotype. J. Seric. Sci. Jpn., 55, 505-509.

- KAWAGUCHI Y., DOIRA H. (1973), Gene controlled incorporation of haemolymph protein into the ovaries of *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 19, 2083-2096.
- KAWAGUCHI Y., DOIRA H. (1974), Incorporation and synthesis of protein by the ovaries of *Bombyx mori*. J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 18, 139-147.
- KAWAGUCHI Y., NHO S.K., MIYAJI Y., FUJII H. (1988a), Characteristics of the *sm-2* egg in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 57, 157-164.
- KAWAGUCHI Y., MIYAJI Y., DOIRA H., FUJII H. (1988b), Changes of proteins during development of ovary in the small egg 2 mutant of *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 57, 289-297.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.L., RANDALL R.J. (1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- OHTSUKI Y. (1965), Studies on the yolk formation in the silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Fac. Text. Fib., Kyoto Univ. Indust. Arts Text. Fib., 4, 314-344.
- ONO S., NAGAYAMA H., SHIMURA K. (1975), The occurrence and synthesis of female- and egg-specific proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem., 5, 313-329.
- TOJO S., NAGATA M., KOBAYASHI M. (1980), Storage protein in the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem., 10, 289-303.

# DETERMINATION GENETIQUE OVARIENNE DE LA FORME DES OEUFS ET DES PROTEINES DU VITELLUS CHEZ LE MUTANT A PETITS OEUFS (SM-2) DE *BOMBYX MORI*

Y. KAWAGUCHI, H. DOIRA, Y. BANNO & H. FUJII

Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-01, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japon.

*Des transplantations réciproques de disques imaginaux ovariens ont été réalisées entre des larves du cinquième âge du mutant sm-2 et la femelle normale en utilisant les descendants du croisement + +/ch sm-2 × ch sm-2/ch sm-2 comme matériel. Dans ce croisement, les larves qui présentent une coloration normale du corps (+) donnent des oeufs de taille normale, tandis que les larves ch de couleur marron-rougeâtre donne des oeufs sm-2 de petite taille et stériles. Les ovaires normaux implantés dans des hôtes sm-2 parviennent à produire des oeufs normaux, les ovaires sm-2 implantés sur les hôtes normaux produisent des oeufs de petite taille, caractéristiques de sm-2. Les quantités de protéines dans les oeufs qui sont produits à partir d'ovaires implantés ne diffèrent pas de celles des témoins respectifs des oeufs normaux et sm-2. L'analyse électrophorétique des protéines du vitellus révèle que la transplantation d'ovaires ne fait apparaître aucun changement. Ces résultats indiquent que le développement des ovocytes en oeufs matures est déterminé par le génotype de l'ovaire.*

## INTRODUCTION

On sait qu'il existe, chez le ver à soie domestiqué *Bombyx mori*, un nombre assez important de mutants dont les oeufs peuvent présenter diverses formes : en fuseau, en ellipse allongée, de calibre plus ou moins gros. La forme de l'oeuf est déterminée dans le corps de la mère avant la fécondation, elle se transmet de façon pseudo-maternelle. L'arrangement et la fonction des cellules du follicule ovarien au cours de la vie pupale déterminent la forme et la structure de la coque de l'oeuf. Les anomalies de la forme de l'oeuf reflètent les défauts dans les arrangements et/ou dans les entités fonctionnelles des cellules du follicule ovarien. Le mutant à oeufs de petite taille est gouverné par un seul gène récessif *sm-2* qui apparaît à la suite d'une mutation spontanée sur le treizième chromosome. Les oeufs de ce mutant sont petits, ne contiennent pas de grands globules protéiques dans le vitellus ; il n'apparaît ni formation de blastoderme ni fécondation.

La formation du vitellus chez le mutant *sm-2* a été étudiée histologiquement. L'activité sécrétrice des cellules du follicule ovarien chez ce mutant est difficile à percevoir, elles ne sécrètent que des substances lipidiques que l'on n'observe jamais chez les ovaires normaux (Ohtsuki, 1965). L'analyse de "linkage" de ce gène mutant a été effectuée par Doira et coll. (1974) ; le gène *sm-2* est lié au gène chocolat (*ch*), un mutant de la couleur du corps larvaire situé sur le treizième chromosome. La liaison de *sm-2* avec *ch* nous a permis de séparer facilement le matériel produisant des oeufs normaux et le matériel produisant des oeufs de petite taille au cours du stade larvaire avant le développement de l'ovogenèse qui se produit après la nymphose. Afin de mettre en évidence le mécanisme du contrôle génétique dans le processus de formation de l'oeuf, nous avons concentré notre attention sur le mutant à petits oeufs *sm-2* de *Bombyx mori*. L'objectif de cet article est de démontrer que la forme et la composition en protéines du vitellus des oeufs sont déterminées par le génotype du tissu ovarien.

## MATERIELS ET METHODES

### Animaux :

Le lot de *Bombyx* utilisé dans cette expérience est la souche d31, maintenue à l'Université de Kyushu par croisement de type  $+ / ch\ sm-2 \times ch\ sm-2$  (Chikushi, 1972). On utilise comme matériel des femelles soeurs ségréguées à partir de ce croisement, les homozygotes *ch* se caractérisant par une couleur marron-rougeâtre du corps larvaire et étant également homozygotes pour *sm-2*. Ils produisent des oeufs *sm-2* de petite taille et stériles. Les larves présentant une couleur normale du corps sont hétérozygotes tant pour les gènes de *ch* que pour les gènes de *sm-2* et produisent des oeufs normaux. Aucun crossing-over ne se produit chez les femelles de cette espèce d'insecte.

### Transplantation du disque imaginal ovarien :

La transplantation réciproque du disque imaginal ovarien est réalisée au deuxième jour du cinquième âge larvaire. La paroi du corps des larves femelles pré-réfrigérées homozygotes pour *sm-2* est incisée avec un rasoir aiguisé au niveau de la marque droite de la paire de "stars" situées sur le huitième segment, exposant ainsi le disque imaginal de droite (de vue dorsale) de la paire de disques imaginaires de l'ovaire. Chaque ovaire est ôté à l'aide de pinces. Les disques imaginaires ovariens droits sont prélevés sur les larves femelles normales ( $+^{sm-2}$ ) de la même façon. Le disque intact d'une larve normale dont on a ôté l'hémolymph par lavage dans la solution de Ringer est implanté dans la cavité corporelle d'une larve *sm-2* à l'endroit de l'opération précédente. Un disque imaginal *sm-2* est transplanté sur une larve normale suivant les méthodes décrites ci-dessus. Tous les receveurs qui survivent à l'opération continuent à se développer jusqu'au stade de l'émergence.

### Préparation de l'hémolymph et des oeufs :

Le papillon femelle soumis à une transplantation de l'ovaire à l'état larvaire est croisé avec un mâle normal. Les oeufs matures sont également prélevés par dissection des papillons en sortie d'émergence. L'hémolymph est recueillie sur les papillons femelles juste après l'émergence en insérant un capillaire en verre sur la membrane intersegmentale de l'abdomen. On ajoute à cet échantillon quelques cristaux de phénylthiourée qui est ensuite centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes. Les échantillons sont utilisés immédiatement après la centrifugation ou après stockage à -20°C selon les besoins de l'expérience. Les concentrations en protéines de l'hémolymph et du vitellus sont déterminées suivant la méthode de Lowry et coll. (1951), la sérumalbumine bovine servant d'unité standard.

### Electrophorèse sur gel :

L'analyse électrophorétique des protéines de l'hémolymph et du vitellus est effectuée sur gel de polyacrylamide cylindrique à pH 9,5 (Kawaguchi et Doira, 1973). La migration se fait en direction de l'anode. Une fois la migration terminée, les gels sont colorés afin de révéler les protéines dans une solution à 5 % de bleu de coomassie R-250 pendant une heure et décolorés avec de l'acide acétique à 7 %.

## RESULTATS

### 1. Forme des oeufs après transplantation des ovaires :

Les oeufs produits par une femelle normale et par une femelle *sm-2* ayant survécu à la transplantation de l'ovaire sont montrés dans la figure 1. Quand l'animal-hôte est un producteur d'oeufs normaux, les oeufs des ovarioles issues de son propre disque ovarien (A-a) sont de taille normale et nettement plus grands que ceux qui proviennent de l'ovaire implanté *sm-2* (A-b), ces derniers ne différant pas, quant à leur taille, des oeufs *sm-2* témoins. Dans le cas de la transplantation réciproque, c'est-à-dire lorsque l'animal-hôte est homozygote pour *sm-2* et l'ovaire implanté issu d'un animal normal, l'ovaire de l'hôte produit de petits oeufs (B-c) propres à *sm-2*, tandis que les oeufs situés dans les ovarioles issues des disques ovariens normaux greffés sont assez grands (B-d) par rapport aux oeufs des animaux normaux non traités. Ces différences de taille apparaissent plus clairement chez les oeufs pondus (C- hôte normal) ou chez ceux qui sont prélevés séparément sur les

ovaires des papillons émergés (D, hôte *sm-2*). Quand les papillons femelles ayant subi une greffe d'ovaire sont accouplés avec des mâles et mis à pondre, les oeufs de taille normale sont fécondés et les embryons à l'intérieur arrivent à éclosion à quelques exceptions près, comme c'est généralement le cas chez les oeufs pondus par des animaux normaux non traités, tandis que les oeufs de petite taille issus des ovaires *sm-2* ne sont absolument pas fécondés, qu'ils proviennent de l'ovaire implanté ou de l'ovaire de l'hôte.

## 2. Protéines des oeufs obtenus à partir de la greffe d'ovaires :

Les compositions en protéines du vitellus des oeufs issus des femelles ayant subi une greffe d'ovaire et des femelles témoins non opérées sont analysées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide cylindrique (Fig 2). Chez les oeufs des femelles normales non opérées (témoins normaux), on observe clairement la présence de quatre composants majeurs (bandes 1, 2, 3, 4) et de 10 bandes mineures (colonne f). La bande 1 est une protéine spécifique à la femelle, la vitellogénine, dont l'origine est située dans l'hémolymphe nymphale. La bande 4 est une protéine spécifique de l'oeuf (ESP) ; elle est synthétisée dans les cellules du follicule ovarien et sécrétée dans les ovocytes au cours du développement. La colonne c montre le modèle des oeufs *sm-2* qui se développent dans l'homozygote *sm-2* (témoin *sm-2*). Toutes les bandes protéiques, y compris les composants majeurs 1 à 4 du témoin normal, sont légèrement colorées, indiquant la présence de chacun des composants en quantité infime. Les spectres protéiques des oeufs issus de femelles soumises à une opération de greffe d'ovaires sont montrés dans les colonnes a, b, d et e. Chez les oeufs de taille normale produits par l'ovaire de l'hôte normal (colonne a), on détecte des fractions 1 à 4 prédominantes et des bandes mineures qui sont similaires aux oeufs témoins normaux ; tandis que le modèle des petits oeufs produits par l'ovaire *sm-2* implantés dans l'hôte normal (colonne b) est très semblable à celui des oeufs *sm-2* témoins. Toutes ces fractions existent à l'état de traces ou en quantités très réduites. Quand l'homozygote *sm-2* est utilisé comme receveur, les oeufs *sm-2* de petite taille produits par l'ovaire de l'hôte (colonne d) présentent un spectre protéique caractéristique des oeufs *sm-2* témoins ; alors que le spectre des oeufs de taille normale issus de l'ovaire normal implanté (colonne e) ne fait apparaître aucune différence par rapport au témoin normal dont les fractions 1 à 4 sont les fractions majeures et les autres les fractions mineures.

En utilisant des oeufs des différentes origines décrites ci-dessus, on a pu mesurer le contenu en protéines du vitellus suivant la méthode de Lowry. Comme le montre le tableau I, les contenus en protéines des oeufs de taille normale déchorionisés sont de 40 à 50 µg/oeuf, ne révélant ainsi aucune différence significative par rapport à ceux qui sont obtenus à partir des femelles témoins et des femelles ayant subi une greffe d'ovaire. Les valeurs des oeufs *sm-2* varient entre 6 et 9 µg/oeuf, aucune différence n'apparaissant non plus ici entre ceux-ci.

## 3. Protéines de l'hémolymphe des papillons femelles ayant subi une greffe d'ovaire au stade larvaire :

Les concentrations protéiques de l'hémolymphe des papillons femelles en sortie d'émergence sont donnés dans le tableau II. La valeur obtenue pour les homozygotes *sm-2* non opérés est de 40 mg/ml et quatre fois plus forte que celle du témoin normal. Les concentrations en protéines des papillons femelles qui ont subi une transplantation d'ovaire au stade larvaire ne font apparaître aucune différence significative entre les deux génotypes des animaux-hôtes, les valeurs étant intermédiaires entre les animaux normaux non opérés et les animaux *sm-2*. Chacun des animaux-hôtes possède une paire d'ovaires issus d'un insecte produisant des oeufs normaux intrinsèques ou d'un insecte formant des petits oeufs ou d'un insecte formant des petits oeufs exogènes ou d'un insecte formant des oeufs normaux, respectivement. Deux types différents d'ovaires existent donc aussi bien chez les femelles opérées du génotype normal que du génotype *sm-2*.

Les électrophorogrammes des hémolymphe des quatre types différents de papillons femelles mentionnés ci-dessus sont donnés sur la figure 3. La colonne A représente le spectre typique du papillon femelle non opéré ayant un génotype normal ; tous les composants protéiques, y compris la vitellogénine (V) ont été détectés à l'état de traces. Tandis que chez les femelles *sm-2* non opérées, on détecte d'importantes quantités de vitellogénine et d'autres composants (colonne D). On note également la présence de grandes quantités de composants protéiques chez les femelles normales sur

lesquelles on a précédemment greffé un ovaire *sm-2* (colonne B) et chez les femelles *sm-2* ayant subi une implantation d'ovaire normal (colonne C).

## DISCUSSION

Le mutant à petits oeufs produit des oeufs de petite taille stériles contenant des traces de globules de vitellus protéique. On a montré que la fonction des cellules nourricières qui fournissent les substances protéiques basophiles aux ovocytes au début du développement larvaire est tout à fait normale chez le mutant *sm-2* (Ohtsuki, 1965). La taille et le nombre de structures en polygone, qui reflètent les limites cellulaires de l'épithélium folliculaire ovarien sur la surface des oeufs *sm-2*, sont plus réduits que ceux des oeufs normaux. Ceci signifie que le gène *sm-2* régule la croissance et la multiplication des cellules des follicules ovariens (Kawaguchi et coll., 1988a). La concentration des protéines dans l'hémolymphe chez les femelles *sm-2* au cours du stade larvaire jusqu'au début de la vie nymphale se rapproche étroitement des valeurs observées chez les femelles normales. Les protéines spécifiques de la femelle au stade larvaire (FL : Doira, 1965 ; identique à la protéine de stockage 1, Tojo et coll., 1980) et celles au stade nymphal (FP, Doira, *loc. cit.*), vitellogénine, sont détectées en quantités similaires aussi bien chez les femelles normales que chez les femelles *sm-2*. Les protéines de l'hémolymphe diminuent rapidement au milieu et à la fin du développement larvaire et sont incorporées dans les ovocytes des femelles normales. Les protéines transférées de l'hémolymphe nymphale forment de larges sphères de vitellus ainsi que d'autres substances issues des cellules nourricières et des cellules folliculaires, impliquant la présence d'une protéine ESP spécifique de l'oeuf (Ohtsuki, 1965 ; Kawaguchi et Doira, 1973, 1974 ; Ono et coll., 1975 ; Irie et Yamashita, 1983). Il n'y a pas de diminution des composés protéiques de l'hémolymphe nymphale chez le mutant *sm-2*, ce qui indique que le gène *sm-2* n'affecte pas la synthèse des protéines vitellogènes de l'hémolymphe mais induit un désordre fonctionnel dans le processus d'assimilation des protéines par les follicules ovariens (Kawaguchi et coll., 1988b).

Après l'émergence, d'importantes quantités de protéines apparaissent dans l'hémolymphe de *sm-2* comparées aux faibles valeurs chez les femelles normales. Dans l'hémolymphe des papillons femelles qui ont subi, au stade larvaire, une transplantation réciproque de l'un des deux ovaires entre les insectes normaux et *sm-2*, les protéines de l'hémolymphe sont retenues en quantités intermédiaires entre les valeurs obtenues chez les animaux non opérés des papillons normaux et *sm-2*. Par rapport aux valeurs de 11 mg/ml et de 40 mg/ml chez les témoins normaux et *sm-2*, respectivement, la valeur moyenne des animaux opérés est de 21 mg/ml. Un ovaire normal produit des oeufs de taille normale contenant de grandes quantités de protéines de vitellus, tandis qu'un ovaire *sm-2* produit des oeufs de petite taille dans lesquels les protéines telles que la vitellogénine n'existent qu'en faible quantité. Chez les femelles ayant subi une transplantation d'ovaire, possédant donc un ovaire normal et un ovaire *sm-2* mais non une paire du même génotype, la consommation des protéines de l'hémolymphe pour la formation du vitellus constitue une moyenne. Ces résultats montrent clairement le rôle vitellogène des protéines de l'hémolymphe dans l'ovogenèse. L'assimilation des protéines dans les ovocytes dépend du génotype des ovaires. Le génotype des ovaires détermine également la taille et la forme des oeufs. Ainsi, le fait que les ovocytes *sm-2* ne peuvent pas assimiler les protéines et ni atteindre une taille normale est dû à l'incapacité du tissu ovarien plutôt qu'aux défauts dans l'environnement extra-ovarien. On a démontré que la forme de l'oeuf est déterminée par l'ovaire en utilisant d'autres mutants tels que *sm*, *ki* et *Ge* (cf. Doira, 1983) par transplantation réciproque des disques imaginaires ovariens (Kawaguchi et Doira, 1974 ; Kanda et coll., 1986 ; Kawaguchi et coll., sous presse).

# MORPHOLOGY OF THE REPRODUCTIVE ORGAN OF *ANTHERAEA MYLITTA* D. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S. KUMAR

Entomological Laboratory, P.G. Department of Zoology, T.N.B. College, Bhagalpur 812 007, India.

*The tasar silk industry is a major source of foreign exchange earning in India. The entire silk production is dependent upon the production of new generations. The female reproductive organ of A. mylitta is constituted of 64 to 79 mm long ovary, the ovariole is divided into 9.5 to 17 mm germarium, 12 mm transition tube and 46 to 57 mm vitellarium. Oviduct is 8 to 10 mm long, the spermatheca is 14 to 15 mm long, the bursa copulatrix is 6 × 2 mm in size. The accessory gland has a sac-like reservoir of 12 to 17 mm in length as well as a tubular coiled anterior end of 97 to 100 mm in length.*

*The male reproductive system of this insect is as significant as that of the female. It consists of all the typical constituents of Lepidoteran male genital system, i.e. Testis, Vasa deferentia, seminal vesicle, seminal duct, accessory gland, ejaculatory duct and aedeagus. Its total length is about 60 mm including paired testis of 3 × 2.25 size.*

**Keywords :** Tropical tasar, silk moth, morphology of female and male reproductive organs.

## INTRODUCTION

The production of silk is directly influenced by the reproductive activity of the silk insect. The detailed morphological study of the reproductive system will be helpful in planning for the improvement of the quantity as well as quality of tropical tasar silk, Jolly *et al.* (1974, 1975 and 1979) gave some information regarding the genital system of this insect, which is scanty and need further investigation, size of the organs and their different parts are also unavailable. The present work is intended to provide new information on these aspects.

## MATERIALS AND METHODS

The cocoons of tasar silk (with live pupae) were obtained from Bihar Institute of Silk and Textiles, Nathnagar, Bhagalpur. The cocoons were kept in the Laboratory of Entomology, T.N.B. College (Bhagalpur) for emergence of moth. After 10 minutes of eclosion wings were removed and moths were transferred into normal pH saline kept in an entomological dissecting tray. After opening the abdomen the reproductive organs were exposed. They were separated from the other organs of the body for detailed study. Now the material was kept under observation with the help of a stereoscopic binocular microscope for counting and measuring. These works were carried out during July to October. Several adults were dissected and their averages along with  $\pm$  SD range values are presented in the tables.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Male (Table I) :**

In the external morphology the male has a shorter abdomen, thicker antenna and curved forewing. Inside the abdomen the male reproductive system remains in the posterior portion in dorsolateral position. The following organs are found in this system.

**Testis :** It is a paired structure of faint green or cream colour. There are four testicular follicles completely fused at their base. Jolly *et al.*, (1979) also expressed the same view. It measures 2.25 mm from top to base and 3 mm from side to side.

**Table I. Measurements of the male reproductive organs of *A. mylitta*.**

**Tableau I. Mesures des organes reproducteurs mâles d'*A. mylitta*.**

| Organ<br><i>Organe</i>                                                       | Length (mm)<br><i>Longueur (mm)</i> | Width (mm)<br><i>Largeur (mm)</i> |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Testis / <i>Testicules</i>                                                   | 2.25 ± .02<br>(2.00 - 2.50)         | 3.00 ± .11<br>(2.50 - 3.50)       |
| Vas defl. and seminal vesicle<br><i>Vas deferens et vésicule séminale</i>    | 10.00 ± .4<br>(9.50 - 11.00)        |                                   |
| Ac. gland / <i>Glande accessoire</i>                                         | 22.00 ± 0.41<br>(21.20 - 22.80)     |                                   |
| Reservoir of the accessory gland<br><i>Réservoir de la glande accessoire</i> | 9.00 ± .06<br>(8.75 - 9.25)         |                                   |
| Ejaculatory duct<br><i>Canal éjaculateur</i>                                 | 25.00 ± .06<br>(23.75 - 26.00)      |                                   |
| Aedcagus<br><i>Edéage</i>                                                    | 8.50 ± 0.09<br>(8.00 - 8.90)        |                                   |

**Vas-deferens and seminal vesicle :** It arises from the base of testis. The length of *vas deferens* is about 10 mm. The seminal vesicle is connected with the reservoir of the accessory gland with the help of a narrow tubular structure. At the junction of this tube and reservoir a white glandular structure is found. Jolly *et al.* (1979) also found a similar observation, but he has mentioned that *vasa deferentia* unite to form the ejaculatory duct while in the present investigation the position is quite different as mentioned above.

**Accessory gland :** It is a paired tubular structure and found highly intermingled over its reservoir. It opens into a wide reservoir of 9 mm in length.

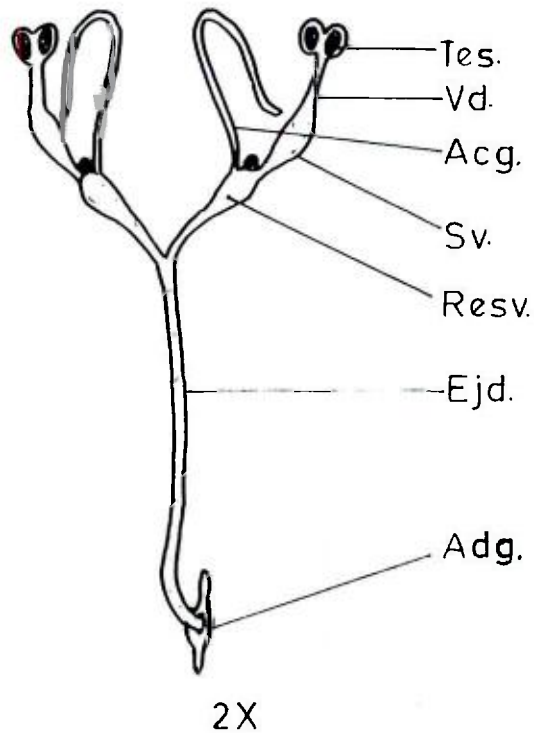


**Fig. 1 : Male reproductive organ of *A. Mylitta* .**

Tes. - Testis, Vd. - Vas deferens, Acg. - Accessory gland, Sv. - Seminal vesicle, Resv. - Reservoir, Ejd. - Ejaculatory duct, Adg. - Aedeagus.

**Fig. 1 : Organe reproducteur mâle d'*A. Mylitta*.**

Tes. - Testicules, Vd. - Vas deferens, Acg. - Glande accessoire, Sv. - Vésicule séminale, Resv. - Réservoir, Ejd. - Canal éjaculateur, Adg. - Édéage.

**Ejaculatory duct :** It is a single convoluted tube of 25 mm in length. Its anterior portion receives the common tube of reservoir and its posterior end opens into aedeagus.

**Aedeagus :** It is a hollow cylindrical tube laying in between the 6th and 9th segments. In this dorsal portion the ejaculatory duct opens.

# **Female (Table II) :**

The female possesses less bushy and slender antenna and uncurved forewing. The female reproductive organ of the moth consists of the following organs.

**Ovary :** It is a paired polytrophic type (Jolly *et al.*, 1979). Each ovary is made up of 4 ovarioles, which are twice to the body length in the present observation, which is contradictory to the report of Jolly (1979) in which he has mentioned it was much as 5 times more than the body length. The total length of the ovary varies from 64 to 79 mm depending on the size of ovariole.

**Ovariole :** It is a long coiled structure, anteriorly attached with the terminal filament and consists of 3 major portions.

a) **Germarium :** It is externally enclosed in a thin, smooth peritoneal layer, where the germ cells give rise to the oocytes, nurse cells, (Imm's, 1957). Its length vary from 9.5 to 17 mm.

b) **Transition tube :** It is a short transparent narrow tubular (duct-like) structure of an average 12 mm in length, which combines the germarium to the vitellarium. Probably it provides space for the onward transmission of the young ova. All the previous literature are mute on this point.

c) **Vitellarium :** It is the posterior most portion of the ovariole. The total length of the vitellarium is 46 to 57 mm which contains 15 to 19 eggs.

**Oviducts :** The 4 ovarioles of each side unit to form the oviduct, which opens into the short common oviducts. The length of the oviduct is 8 to 10 mm. The common oviduct leading behind a smaller space known as vestibule. The vestibule slightly widens to the posteroventral side constituting the vagina. The vagina leading behind to the oviparous earlier than the anus. According to Jolly *et al.* (1979), the vagina was leading outside through *ostium bursae* as a separate opening, but as per our observation there is nothing like separate pore, the posterior portion of *bursa-copulatrix* becomes fused with the posterior portion of the vestibule forming a wide vagina. It is also supported by Snodgrass (1943) in the case of some other members of this family.

**Spermatheca :** It is a tubular coiled structure of 14 to 15 mm in length, which opens into *recepticulum seminis*. Its anterior tubular portion is 8.5 mm in length. A small spermathecal gland of 1.6 mm in width and 19 mm in length also opens in to *recepticulum seminis*. *Recepticulum seminis* is of 3 to 5 mm in length and posteriorly opens into the 3 mm-long receptacular duct. Jolly *et al.* (1974) considered *recepticulum seminis* and spermatheca as the same thing but in the present investigation these two parts have separate identities.

**Bursa-copulatrix :** It is a sac-like flattened and curved structure of 6 mm length and 2 mm width. It opens into the posterior end of the ovariole (vitellarium). A narrow closed outgrowth of 2 mm length and 1 mm thickness is also found at the anterior side. The posterior portion of *Bursa-copulatrix* which joins to the vestibule is 4 mm long and 3 mm wide.

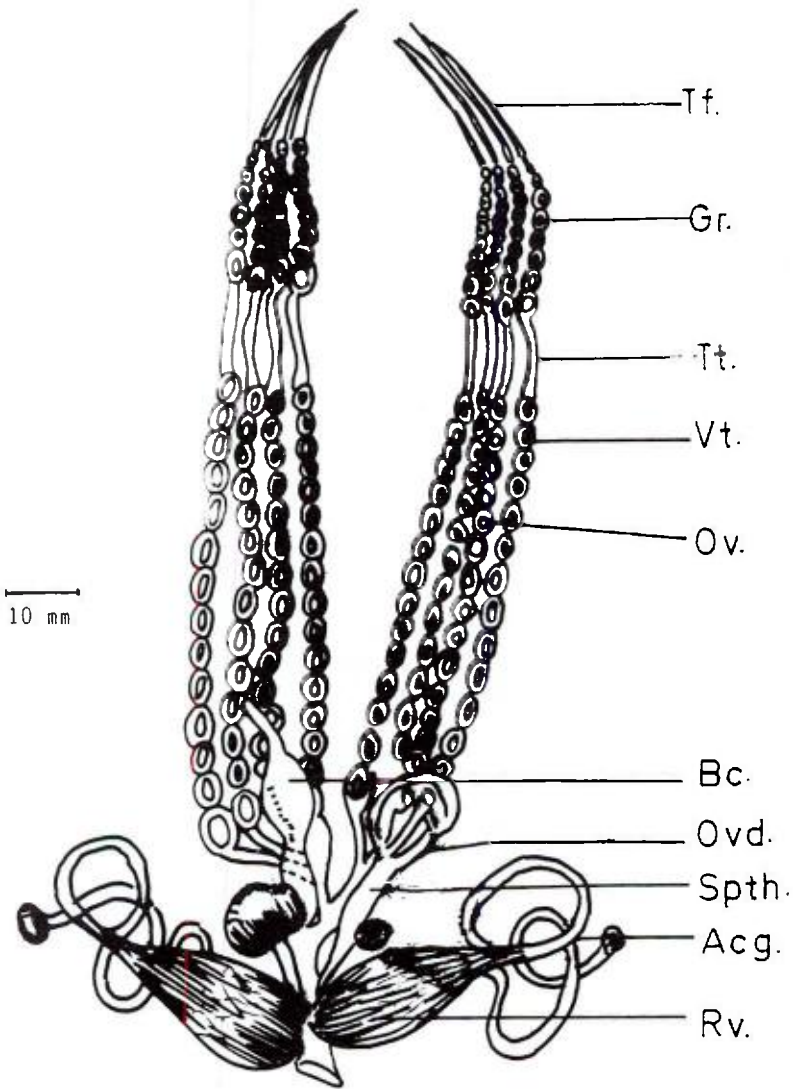


**Fig. 2 : Female reproductive organ of *A. Mylitta*.**

Tf. - Terminal filament, Gr. - Germarium, Tt. - Transition tube, Vt. - Vitellarium, Ov. - Ovariole, Ovd. - Oviduct, Bc. - Bursa-copulatrix, Spth. - Spermatheca, Acg. - Accessory gland, Rv. - Reservoir.

**Fig. 2 : Organe reproducteur femelle d'*A. Mylitta*.**

Tf. - filament terminal, Gr. - Germarium, Tt. - Tube de transition, Vt. - Vitellarium, Ov. - Ovariole, Ovd. - Oviducte, Bc. - Bursa copulatrix, Spth. - Spermatheca, Acg. - Glande accessoire, Rv. - Réservoir.

Table II. Measurements of the female reproductive organs of *A. mylitta*.Tableau II. Mesures des organes reproducteurs femelles d'*A. mylitta*.

| Organ<br><i>Organe</i>                                                                    | Length (mm)<br><i>Longueur (mm)</i> | Width (mm)<br><i>Largeur (mm)</i> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Ovariole :                                                                                |                                     |                                   |
| a) Germarium                                                                              | 12.15 ± 2.62<br>(9.50 - 17.00)      |                                   |
| b) Transition tube / <i>Tube transitoire</i>                                              | 12.00 ± 2.10<br>(9.50 - 16.00)      |                                   |
| c) Vitellarium                                                                            | 48.90 ± 3.28<br>(46.00 - 57.00)     |                                   |
| Oviducts / <i>Oviductes</i>                                                               | 9.00 ± .06<br>(8.00 - 10.00)        |                                   |
| Spermatheca / <i>Spermathèque</i>                                                         | 14.60 ± .04<br>(14.00 - 15.00)      |                                   |
| Ant. tub. portion / <i>Partie antérieure du tube</i>                                      | 8.50 ± .19<br>(7.75 - 9.50)         |                                   |
| Spermathecal gland / <i>Glande spermathèque</i>                                           | 19.00 ± .33<br>(17.50 - 21.00)      | 1.60 ± .05<br>(1.50 - 1.90)       |
| <i>Recepticulum seminis</i>                                                               | 4.00 ± .08<br>(3.00 - 5.00)         |                                   |
| Recepticular duct / <i>Canal récepteur</i>                                                | 3.00 ± .06<br>(2.75 - 3.25)         |                                   |
| <i>Bursa copulatrix</i>                                                                   | 6.00 ± .09<br>(5.75 - 6.50)         | 2.00 ± .16<br>(1.75 - 2.50)       |
| Outgrowth of <i>bursa copulatrix</i><br><i>Excroissance de la bursa copulatrix</i>        | 2.00 ± .16<br>(1.75 - 2.50)         | 1.00 ± .03<br>(.85 - 1.15)        |
| Post. portion of <i>bursa copulatrix</i><br><i>Partie postérieure de bursa copulatrix</i> | 4.00 ± .08<br>(3.00 - 5.00)         | 3.00 ± .11<br>(2.50 - 3.50)       |
| Accessory gland / <i>Glande accessoire</i>                                                | 98.10 ± 1.2<br>(97.00 - 100.00)     |                                   |
| Ant. Tubular of a. gland<br><i>Tube antérieur de la glande accessoire</i>                 | -                                   | 0.5 ± 0.04<br>(0.3 - 0.7)         |
| Sac-like reservoir / <i>Réservoir en forme de poche</i>                                   | 13.90 ± 1.6<br>(12.00 - 17.00)      |                                   |

**Accessory gland (Collateral gland) :** It is a paired long tubular and convoluted gland. The anterior end of this gland is coiled having a 97 to 100 mm long tube. Its anterior tip portion is round and of 0.5 mm in diameter. It opens into the vestibule which dilates into an oblong sac-like reservoir of 12 to 17 mm length. According to Jolly *et al.* (1979), the whole length of the terminal tube is 2 1/2 times that of the body length, but in the present investigation the facts do not tally with these earlier observations. It is only double of the total length of the body.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The author is thankful to Sri A.K. Srivastava, Reader in Entomology, T.N.B. College, Bhagalpur for proper guidance regarding the dissection of the insect. The author is also thankful to Prof. H.S. Shrivastava, Principal, Bihar Institute of Silk and Textiles for providing green cocoons, and Mr. P. Ashok for his cooperation during the preparation of this manuscript.

### REFERENCES

- IMM'S A.D. (1957), A general text book of entomology part II. Revised by Richards & Davies, Methuen and Co. Ltd. London, 1085-1087.
- JOLLY M.S., SEN S.K., AHSAN M.M. (1974), Tasar culture. Ambika publishers. 1st Edition 74-77.
- JOLLY M.S., CHOUDHARY S.N., SEN S.K. (1975), Non-mulberry sericulture in India released by Central Silk Board, Bombay, India, 1- 48.
- JOLLY M.S., VISHWAKARMA S.N., AHSAN M.M. (1975), Studies on the anatomy of *Antheraea mylitta*. Annual report, Central Tasar Research Station, Ranchi, 128-129.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979), A non-mulberry silk. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, 29.
- SNODGRASS R.E. (1943), Principles of insects morphology. Magrow Hill Book Company Inc., New York and London., 552-567.
- SRIVASTAVA A.K (1987), Personal communication.

# MORPHOLOGIE DES ORGANES REPRODUCTEURS CHEZ *ANTHRAEA MYLITA* D. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S. KUMAR

Entomological Laboratory, P.G. Department of Zoology, T.N.B. College, Bhagalpur 812 007, Inde.

*L'industrie de la soie tasar constitue l'une des principales sources de revenus d'exportation en Inde. La production de soie dépend entièrement de la production de nouvelles générations. L'organe reproducteur de la femelle d'*Antheraea mylita* est composé d'un ovaire de 64 à 79 mm de long, l'ovariole est formée d'un germarium de 9,5 à 17 mm, d'un tube intermédiaire de 12 mm et d'un vitellarium de 46 à 57 mm ; l'oviducte a une longueur de 8 à 10 mm, la spermathèque de 14 à 15 mm, la bursa copulatrix a une taille de 6 × 2 mm. La glande accessoire est constituée d'un réservoir en forme de poche de 12 à 17 mm de long ainsi que d'une extrémité antérieure tubulaire enroulée de 97 à 100 mm de long.*

*Le système reproducteur du mâle de cet insecte est aussi typique que celui de la femelle. Il est formé de tous les composants de l'appareil génital mâle des lépidotères, à savoir : les testicules, les vasa deferentia, la vésicule séminale, le canal séminal, la glande accessoire, le canal éjaculateur et l'édéage. Sa longueur totale est d'environ 60 mm, dont une paire de testicules de 3 × 2,25.*

## INTRODUCTION

La production de soie est étroitement liée à l'activité reproductrice de l'insecte séricigène. L'étude détaillée de la morphologie du système de reproduction permet de planifier l'amélioration tant de la quantité que de la qualité de la soie tasar tropicale. Jolly et coll. (1974, 1975 et 1979) ont publié quelques résultats sur le système génital de cet insecte, résultats qui restent insuffisants ; des investigations supplémentaires sont nécessaires puisqu'il n'existe aucune documentation concernant la taille des organes et leurs différentes parties. La présente étude vise à fournir de nouvelles informations sur ces différents aspects.

## MATERIELS ET METHODES

Les cocons tasar (contenant des chrysalides vivantes) proviennent du Bihar Institute of Silk and Textiles, Nathnagar, Bhagalpur. Ils sont maintenus au Laboratoire d'Entomologie de T.N.B. College (Bhagalpur) jusqu'à l'émergence des papillons. Dix minutes après l'éclosion, les ailes sont prélevées et les papillons sont transférés dans une solution saline à pH normal dans un bac à dissection. Après ouverture de l'abdomen, les organes reproducteurs sont exposés et séparés des autres organes du corps afin de procéder à leur étude détaillée. Le matériel est observé sous microscope binoculaire stéréoscopique pour permettre le comptage et la prise des mesures. Ces travaux ont été réalisés de juillet à octobre. Plusieurs adultes ont été disséqués et les moyennes ainsi que les valeurs de l'écart type sont présentées dans les tableaux.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Mâle (Tableau I) :

Extérieurement, la morphologie du mâle présente les caractéristiques suivantes : abdomen plus court, antenne plus épaisse et aile antérieure courbe. A l'intérieur de l'abdomen, le système reproducteur du mâle se situe dans la partie postérieure, en position dorsolatérale. On distingue les organes suivants :

**Testicule** : c'est une structure paire de couleur vert clair ou crème. Il y a quatre follicules testiculaires fusionnés par leur base. Jolly et coll. (1979) ont fait la même observation. Ils mesurent 2,25 mm de haut en bas et 3 mm latéralement.

**Vas deferens et vésicule séminale** : Le *vas deferens* part de la base du testicule. Sa longueur est d'environ 10 mm. La vésicule séminale est reliée au réservoir de la glande accessoire par une structure tubulaire étroite. A la jonction du tube et du réservoir, on observe une structure glandulaire blanche. Jolly et coll. (1979) ont fait une observation similaire mais en précisant que les *vasa deferentia* fusionnent pour former le canal éjaculateur, alors que dans cette étude, la position est tout à fait différente, comme le montre la description ci-dessus.

**Glande accessoire** : C'est une structure tubiforme paire qui s'entremêle au-dessus de son réservoir. Elle s'ouvre sur un large réservoir de 9 mm de longueur.

**Canal éjaculateur** : C'est un tube simple formant des circonvolutions de 25 mm de long. Sa partie antérieure reçoit le tube commun au réservoir et sa partie postérieure débouche sur l'édéage.

**Edéage** : C'est un tube cylindrique creux qui s'étend entre le 6ème et le 9ème segment. Le canal éjaculateur débouche sur cette partie dorsale.

### Femelle (Tableau II) :

Chez la femelle, l'antenne est plus fine et plus longue et l'aile antérieure n'est pas courbe. L'organe reproducteur femelle du papillon est constitué des organes suivants :

**Ovaire** : Il est du type polymorphique paire (Jolly et coll., 1979). Chaque ovaire est composé de quatre ovarioles qui, dans la présente observation, sont deux fois plus longues que le corps, ce qui est en contradiction avec l'observation de Jolly (1979) dans laquelle il a établi qu'il pouvait être jusqu'à cinq fois plus long que le corps. La longueur totale de l'ovaire varie de 64 à 79 mm suivant la taille de l'ovariole.

**Ovariole** : c'est une structure longue enroulée, reliée à l'avant au filament terminal et qui se compose de trois parties principales :

a) **Germarium** : il est enveloppé à l'extérieur d'une fine couche péritonéale lisse, sur laquelle les cellules germinatives donnent naissance aux ovocytes et aux cellules nourricières (Imm's, 1957). Sa longueur varie de 9,5 à 17 mm.

b) **Canal transitoire** : c'est une structure tubulaire étroite et transparente d'une longueur moyenne de 12 mm qui relie le germarium au vitellarium. Il est probable qu'il fournisse l'espace nécessaire à la transmission vers l'avant des jeunes ovules. Les travaux antérieurs sont muets sur ce point.

c) **Vitellarium** : c'est la partie antérieure de l'ovariole. Le vitellarium est d'une longueur totale de 46 à 57 mm et contient 15 à 19 oeufs.

**Oviductes :** Les quatre ovarioles de chacun des côtés s'unissent pour former l'oviducte qui débouche sur de petits oviductes communs. La longueur de l'oviducte est de 8 à 10 mm, l'oviducte commun aboutit derrière un espace plus réduit connu sous le nom de vestibule. Le vestibule s'élargit légèrement sur le côté postéroventral formant le vagin. Le vagin conduit à l'arrière vers la partie ovipare avant l'anus. D'après Jolly et coll. (1979), le vagin débouche sur l'extérieur par les *ostium bursae* qui constituent une ouverture séparée, mais d'après notre étude, il n'existe aucun pore séparé, la partie postérieure de la *bursa copulatrix* fusionne avec la partie postérieure du vestibule, formant ainsi un vagin large. Cette observation est également corroborée par Snodgrass (1943) pour certains autres membres de cette famille d'insectes.

**Spermathèque :** C'est une structure tubulaire enroulée de 14 à 15 mm de long qui s'ouvre sur le *recepticulum seminis*. Sa partie tubulaire antérieure fait 8,5 mm de long. Une petite glande spermathèque de 1,6 mm de large et 19 mm de long s'ouvre également sur le *recepticulum seminis*. Le *recepticulum seminis* fait de 3 à 5 mm de long et s'ouvre à l'arrière sur le canal récepteur de 3 mm de long. Jolly et coll. (1974) estiment que le *recepticulum seminis* et la spermathèque sont le même organe, mais dans la présente investigation ces deux parties ont des identités séparées.

**Bursa copulatrix :** C'est une structure en forme de poche courbe de 6 mm de long et 2 mm de large. Elle s'ouvre sur l'extrémité postérieure de l'ovariole (vitellarium). On observe également une excroissance étroite fermée de 2 mm de long et 1 mm d'épaisseur sur le côté antérieur. La partie postérieure de la *bursa copulatrix* qui rejoint le vestibule fait 4 mm de long et 3 mm de large.

**Glande accessoire (glande collatérale) :** C'est une structure paire, tubulaire, allongée et formant des circonvolutions. L'extrémité antérieure de cette glande est enroulée et possède un tube long de 97 à 100 mm. L'extrémité antérieure est sphérique et a un diamètre de 5 mm. Elle débouche dans le vestibule qui se dilate en un réservoir en forme de poche allongée de 12 à 17 mm de long. D'après Jolly et coll. (1979), la longueur totale du tube terminal est 2,5 fois celle du corps, mais dans la présente étude, les faits ne s'accordent pas avec ces observations antérieures : elle fait seulement le double de la longueur du corps.

# STABILITY OF POSTERIOR SILKGLAND mRNAs : POSSIBLE INVOLVEMENT OF POLY(A) SEQUENCES AND PROTEINS ASSOCIATED WITH mRNAs

A. SIRONMANI & G. SHANMUGAM

School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 6250021, India.

*In view of the possible involvement of poly(A) sequences and the proteins associated with mRNA in the stability silk gland mRNAs, the length of 3' poly(A) sequences of the RNase digested RNA and sensitivity of RNAs to RNA were studied on different days of the fifth instar development of the silkworm, Bombyx mori. Two classes of poly(A) sequences, 110 and 120 nucleotides, were found on different days of the development. There was no change in the poly(A) size and the size of 110 and 120 nucleotides may be sufficient to ensure the physical and functional stability of posterior silk gland mRNAs. The RNase sensitivity assay shows that the proteins associated with RNA play a major role in protecting the RNA from degradation.*

**Keywords :** Silk gland mRNA, stability of RNA, Poly(A) sequences, *Bombyx mori*.

## INTRODUCTION

Of the possible post-transcriptional control mechanisms, the stability of mRNA is one of the most important control mechanisms in the case of silk gland gene expression (Maekawa and Suzuki, 1980 ; Couble *et al.*, 1983). The prime candidates for the stability of mRNA are the proteins that interact with RNA in the nucleus and cytoplasm forming ribonucleoprotein particles (Prebrazhensky and Spirin, 1978 ; Liautard and Egly, 1980). Different studies suggest that capping of mRNA facilitates its binding to eukaryotic ribosomes and enhances the stability of the mRNA (Kozak, 1978). According to Palatnik *et al.* (1984) and Brawerman (1987) the functional stability of a biologically active mRNA is dependent upon the presence of a terminal poly(A) sequence. This could be explained in terms of the maintenance of the structural integrity of the RNA molecule by poly(A) which inhibits its degradation (Levy *et al.*, 1975 ; Carrezana *et al.*, 1988 ; Brewer and Ross, 1988). The level of ribonuclease can also indirectly determine the stability of RNA (Kraft and Shortman, 1970 ; Samarina *et al.*, 1979 ; Segura and Gavilanes, 1982 ; Fominaya *et al.*, 1984 ; Gileadi *et al.*, 1984). With this background information, in order to understand the factors governing the stability of silk gland mRNAs, the 3' oligo(A) tracts of the RNase digested posterior silk gland RNAs and their sensitivity to RNase on various days of fifth instar development were studied.

## MATERIALS AND METHODS

### Chemicals :

<sup>32</sup>P-orthophosphate (carrier free) was purchased from Bhabha Atomic Research Centre, Bombay, India. RNase T<sub>1</sub>, pancreatic RNase A and other fine chemicals were from Sigma Chemicals, USA. All the other chemicals used were of analar grade and were from Sarabhai E. Merck., BDH or SDS Fine chemicals, India.

**Collection and rearing of silkworms :**

Fifth instar silkworms of NB4D2 strain were obtained from the Sericulture Department, Madurai. The larvae were exclusively fed on mulberry leaves. Batches of synchronous larvae were used for all the studies.

**RNA extraction :**

The total RNA was extracted from the posterior silk glands on the third, fifth and seventh days of the larval development following the method of Suzuki and Brown (1972). The RNA was precipitated twice from the aqueous phase with ethanol in the presence of 0.2 M NaCl. The precipitated RNA was collected and dissolved in 0.01 M sodium acetate pH5.

**Poly(A) tract analysis :**

To characterise the lengths of poly(A) stretches of RNA the method of Aujame and Freeman (1976) was followed with a few modifications. Briefly, samples in 200  $\mu$ l equivalent to 5 to 10 A<sub>260</sub> units of RNA in 0.01 M Tris-HCl pH 7.5, 0.2 M NaCl and 0.002 M EDTA were digested with 10 units/ml of ribonuclease T<sub>1</sub> and 20  $\mu$ g/ml of pancreatic ribonuclease at 37°C for 30 minutes. Following incubation, 1 ml of 0.1 M NaCl, 20 mM sodium acetate pH 8.5 and 0.5 % SDS were added and the mixture was extracted with an equal volume of buffer saturated phenol at room temperature (Penman, 1966). The poly(A) tract was precipitated with 2.5 volumes ethanol in the presence of 0.2 M potassium acetate. The poly(A) tracts thus obtained were electrophoresed in 10 % polyacrylamide - 6 M urea gel.

**RNase sensitivity assay :**

Ribonuclease sensitivity assay was done by the method of Ferdinand and Fuller (1970).

**Preparation of the enzyme :**

The larvae were sacrificed on different days of the development starting from the first day of the fifth instar. The posterior silk glands were homogenized in a buffer containing 20mM Tris-HCl pH 7.5, 25 mM NaCl and 5 mM MgCl<sub>2</sub> and centrifuged at 27,000 g for 45 minutes at 4°C. The supernatant was used as the source of ribonuclease.

**Preparation of the substrate :**

32p-phosphate labelled RNA from yeast, cytoplasmic and polysomal RNPs from posterior silk gland were used as substrates for monitoring RNase sensitivity.

**Isolation of yeast RNA :**

*Saccharomyces cerevisiae* were grown at 28°C in a repression medium containing Dextrose 1 %, 0.9 CaCl<sub>2</sub>, 0.04 MgSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 0.06 %. The preculture cells were inoculated in a phosphate-free medium as above and was grown for 3 hours. After 3 hours 2mCi of <sup>32</sup>P-phosphate was added to the medium and cells were allowed to grow for one more hour. The cells were harvested, washed and RNA extracted after mechanical grinding with a mixture of corborundum and celite.

**Preparation of labelled RNPs from posterior silk gland :**

The membrane-bound and free polysomes were prepared following the combined method of Kobayashi *et al.* (1966), Palmiter, (1974) and Lizardi (1980).

The RNPs were released from the polysomes by treating with 20mM EDTA for 15 min. and the RNPs released were salt washed by adjusting the KCl concentration to 500 mM to a total volume of 1 ml per 10 A<sub>260</sub> of RNPs to reduce the non-specific binding of proteins to mRNA (Bag and Sells, 1979). Salt washed RNPs were collected by centrifugation through 5 ml 10 % sucrose in TKM (50 mM Tris-HCl pH 7.6, 50 mM KCl, and 1mM MgCl<sub>2</sub> buffer) for one hour at 36,000 rpm. The pellet was resuspended in TKM buffer.

**RNase sensitivity assay :**

The incubation mixture contained 0.2 ml of 0.2 M Tris-HCl buffer pH 7.6, 500 µg to 1500 µg of RNA/RNP and 1 mg of cytosol (enzyme) in a final volume of 1 ml. After the incubation, 1 ml of 1 M HCl in aqueous 75 % (v/v) ethanol was added and the mixture was kept in ice for 30 minutes. After centrifugation the A<sub>260</sub> and the radioactivity of the suitably diluted supernatant were measured. Appropriate controls were employed for the endogenous contribution of acid soluble nucleotides.

**RESULTS AND DISCUSSION****Poly(A) tract analysis :**

The mRNA region most vulnerable to nucleolytic cleavage appears to be at its poly(A) tail and at the adjacent non-translated sequences (Bergmann and Brawerman, 1977). The stability of these regions seems to be a decisive element in determining the expression and turnover rate of these molecules. In order to understand the complexity of the polyadenylated species of RNA, the length of the poly(A) tracts of the RNA accompanying development were analysed. The analyses are expected to indicate the nature and changes, if any, of the poly(A) containing RNA and the poly(A) tract during the development might in turn point out some functional role in the development.

The electrophoretic distribution of poly(A) tracts obtained from total RNA on different days of the development is shown in Fig. 1. The poly(A) tracts migrated as two bands with a chain length of 110 and 120 adenylate residues. The sequence length of poly(A) was maintained throughout the fifth instar larval development. Similar results were obtained during myogenesis (Paterson and Bishop, 1977) and oocyte maturation in the case of *Xenopus* (Okuyama *et al.*, 1981). According to Sheinss and Damell (1973), Jeffery and Brawerman (1974) and Palatnik *et al.* (1980); at steady state mRNA *in vivo* retains about 40-60 adenylate residues in their poly(A) tail and this length of poly(A) is generally sufficient to ensure the physical and functional stability of poly-adenylate RNAs.

Although there is some controversy (Palatnik *et al.*, 1984 ; Manrow and Jacobson, 1987) most published evidences support the idea that poly(A) excision precedes mRNA degradation in mammalian cells. First poly(A) tracts shorten with age (Medford *et al.*, 1980 ; Okuyama *et al.*, 1981 ; Brewer and Ross, 1988) and some mRNAs do lose their poly(A) before they are degraded (Nakai *et al.*, 1982 ; Colot and Rosbash, 1982 ; Krowczynska *et al.*, 1985 ; Mercer and Wake, 1985 ; Restifo and Guild, 1986). Second, the addition of poly(A) to some deadenylated mRNAs stabilizes them (Huez *et al.*, 1978 ; Deshpande *et al.*, 1979 ; Peltz *et al.*, 1987 ; Soreq *et al.*, 1981). Third, certain hormones, sugars and certain physiological stress conditions might stabilize targeted mRNAs by a mechanism involving poly(A) elongation (Welsh *et al.*, 1985 ; Muschel *et al.*, 1986 ; Paek and Axel, 1987 ; Carrazana *et al.*, 1988).

**RNA sensitivity :**

Control of RNA stability via the regulation of ribonuclease activity is considered by many authors (Kraft and Shortman, 1970 ; Guyette *et al.*, 1979 and Vincent *et al.*, 1981).

The extent of RNA sensitivity of yeast RNA as well as polysomal RNP from the fifth instar silkworm using RNase from posterior silk gland is shown in Table I. The sensitivity of yeast RNA to RNase was found to be higher when the RNase from the later days of the development were used and about 50-63 % of RNA was degraded. When the RNPs obtained from the posterior silk gland were used as a substrate, the degradation was much lower (3 % on the first day and 50 % at the end of the larval period) than that with RNA as a substrate. This difference can be explained in terms of association of the RNA with a protein capable of preventing the degradation of RNA during the early days of the development. A clear correlation can be established between mRNA levels ribonuclease sensitivity indirectly the RNase activity and development of the silkworm larva as observed by Segura and Gavilanes (1982) in the case of insect *Ceratitis capitata* and by Meyer *et al.* (1970) in the case of the yellow fever mosquito, *Anaphelis aegypti*. Levy *et al.* (1975) have suggested a model explaining the stability and ultimate degradation of eukaryotic mRNA. The stability according to that model is by the formation of the inhibitor complex between RNase and RNA terminal poly(A). The eventual destruction of mRNA would be assured either by the accumulation of polyamines or alternatively by the gradual reduction in size of poly(A) (Greenberg and Perry, 1972 ; Blobel, 1973 ; Bergmann and

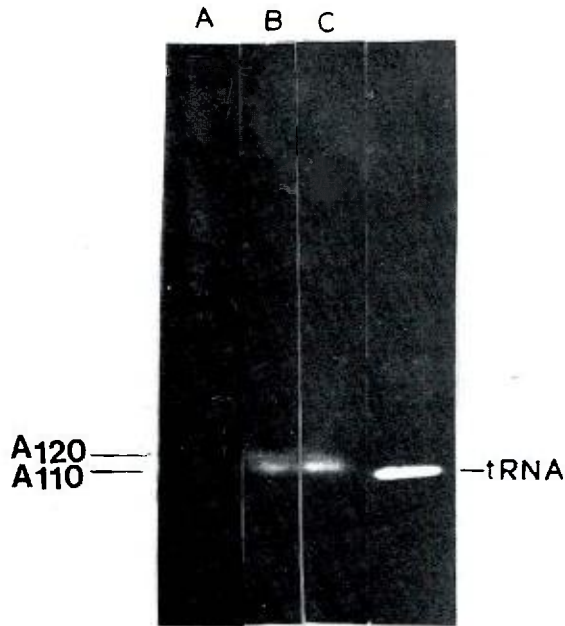


**Fig. 1 : Electrophoretic analysis of poly(A) tracts from total RNA on different days of fifth instar silkworm.**

Poly(A) tracts were obtained from total RNA from posterior silk gland on third (A), fifth (B) and seventh (C) days of fifth instar development as described in methods and were analysed on a 10 % polyacrylamide 6 M urea gel. The *E. Coli* tRNA (100 nucleotides) from Sigma Chemicals, USA, was used as standard marker.

**Fig. 1 : Analyse électrophorétique des poly(A) de l'ARN total à différents jours du développement au 5ème âge.**

Les Poly(A) proviennent de l'ARN total de la partie postérieure de la glande séricigène aux 3ème (A), 5ème (B) et 7ème jours du développement du 5ème âge suivant la méthode décrite au chapitre "Matériels et Méthodes" et sont analysés sur gel polyacrylamide urée 6 M à 10 %. L'ARNt d'*E. coli* (100 nucléotides) provient de Sigma Chemicals, USA, et sert de marqueur témoin.

Brawerman, 1977 ; Baer and Korenberg, 1980 ; Adam *et al.*, 1986 ; Brewer and Ross, 1988) with concomitant reduction of its inhibitory power.

From the results it is obvious that since there is no reduction in the poly(A) size during different days of development, the size of 110-120 nucleotides may be sufficient to ensure the physical and functional stability of posterior silk gland mRNAs. The result obtained by RNase sensitivity assay shows that the proteins associated with RNA play a major role in preventing the mRNA from degradation.

**Table I. Sensitivity of RNA (in percentage) to RNase during different days of larval development.**

**Tableau I. Sensibilité de l'ARN (en pourcentage) à la RNase au cours de différents jours du développement larvaire.**

| Substrate / Substrat              | Days of development<br>Développement larvaire (jours) |       |       |       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
|                                   | I                                                     | III   | V     | VII   |
| Yeast RNA<br>ARN de levure        | 52.0%                                                 | 55.5% | 59.2% | 63.2% |
| Polysomal RNP<br>RNP de polysomes | 3.0%                                                  | 3.0%  | 32.5% | 50.0% |

The kinetics of degradation of  $^{32}\text{P}$ -labelled RNA / polysomal RNP by RNase from the posterior silk gland on different days of the fifth instar larval development. The reaction was carried out as described in the methods. Acid soluble counts were determined by measuring the radioactivity in a liquid scintillation counter. % RNase sensitivity, indirectly the RNase activity, refers to the percentage acid soluble counts per minute to the total RNA/RNP added as a substrate.

*Cinétique de dégradation de l'ARN et des RNP de polysomes marqués au  $^{32}\text{P}$  par la RNase de la partie postérieure du sécréteur à différents jours du développement au 5ème âge. La réaction est réalisée suivant la méthode décrite au chapitre "Matériels et Méthodes". La radioactivité acido-soluble est déterminée par un compteur à scintillation liquide. Le pourcentage de sensibilité à la RNase, indirectement l'activité de la RNase, est obtenu en effectuant le rapport de la radioactivité soluble sur le total ARN/RNP radioactifs ajouté comme substrat.*

However the variations of fibroin mRNA during the molting cycle suggest that the hormone ecdysone (Calvez *et al.*, 1976) and the juvenile hormone (Daillie, 1979) controlling the larval development, regulate the stability of the mRNA. Also the existence of an alimentary signal (Couble *et al.*, 1983) cannot be ruled out. But still the functional significance and mechanisms underlying these physiological factors governing the stability of mRNAs remain to be determined.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The financial support extended to Mrs Anitha Sironmani by CSIR is gratefully acknowledged.

## REFERENCES

- ADAM S.A., NAKAGAWA T., SWANSON M.S., WOODRUFF T.K., DREYFUSS G. (1986), mRNA polyadenylate binding protein ; Gene isolation and sequencing and identification of a ribonucleoprotein consensus sequence. *Mol. Cell. Biol.*, 6, 2932-2943.
- AUJAME L., FREEMAN K.B. (1976), The synthesis of polyadenylic acid containing ribonucleic acid by isolated mitochondria from *Ehrlich ascites* cells. *Biochem. J.*, 156, 499-506.
- BAER B.W., KORNBERG R.D. (1980), Repeating structure of cytoplasmic poly(A) ribonucleoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77, 1890-1892.
- BAG J., SELLS B.H. (1979), Heterogeneity of the nonpolysomal cytoplasmic mRNA protein complexes of embryonic chicken muscle. *Eur. J. Biochem.*, 99, 507-516.
- BERGMAN I.E., BRAWERMAN G. (1977), Control of breakdown of poly(A) sequence in mammalian polyribosomes : Role of polyadenylic acid protein interactions. *Biochemistry*, 16, 259-264.
- BLOBEL G. (1973), A protein of molecular weight 78,000 bound to polyadenylate region of eukaryotic messenger RNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70, 924-928.
- BRAWERMAN G. (1987), Determinants of messenger RNA stability. *Cell*, 48, 5-6.
- BREWER G., ROSS J. (1988), Poly(A) shortening and degradation of the 3' A + U rich sequences of human c-myc mRNA in a cell free system. *Mol. Cell. Biol.*, 1697-1708.
- CALVEZ B., HIRN M., DE REGGI M. (1976), Ecdysone changes in the haemolymph of two silkworms (*Bombyx mori* and *Philosamia cynthia*) during larval and pupal development. *FEBS Letters.*, 71(1), 57-61.
- CARRAZANA E.J., PASIEKA K.B., MAJZOUB J.A. (1988), The vasopressin mRNA poly(A) tract is unusually long and increases during stimulation of vasopressin gene expression *in vivo*. *Mol. Cell. Biol.*, 2267-2274.
- COLOT H.V., ROSBASH M. (1982), Behaviour of individual maternal pA + RNAs during embryogenesis of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.*, 94, 79-86.
- COUBLE P., GAREL A., PRUDHOMME J.C. (1983), Developmental variations of a non fibroin mRNA of *Bombyx mori* silkgland, encoding for a low molecular weight silk protein. *Dev. Biol.*, 97, 398-407.
- DAILLIE J. (1979), Juvenile hormone modifies larvae and silk gland development in *Bombyx mori*. *Biochimie*, 61, 275-281.
- FERDINAND R.T.L., FULLER G.C. (1970), Suppression of hepatic ribonuclease during phenobarbital stimulation of drug metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 38, 811-816.
- FOMINAYA J.M., SEGURA J.M.G., GAVILANES J.G. (1984), Polyadenylated RNA during the development of *Ceratitis Capitata*. *Insect Biochem.*, 14(3), 307-311.
- GILEADIO, LORBERBOUM H., GROOT N., HOCHBERG A.A. (1984), Location of RNase and RNase inhibitor on free cytoplasmic mRNA protein particles from human placenta. *Mol. Biol. Rep.*, 9, 241-244.
- GREENBERG J.R., PERRY R.P. (1972), Relative occurrence of polyadenylic acid in messenger and heterogeneous nuclear RNA of L cells as determined by poly(U) hydroxylapatite chromatography. *J. Mol. Biol.*, 72, 91-95.
- GUYETTE W.A., MATUSIK R.J., ROSEN J.M. (1979), Prolactin mediated transcriptional and post-transcriptional control of casein gene expression. *Cell*, 17, 1013-1023.
- HUEZ G., MARBAIX G., GALLWITZ D., WEINBERG E., DEVOS R., HUBERT E., CLEUTER Y. (1978), Functional stability of HeLa Cell histone messenger RNA injected into *Xenopus* oocytes by 3'OH polyadenylation. *Nature, London*, 271, 572-573.
- JEFFERY W.R., BRAWERMAN G. (1974), Characterization of messenger RNA and its poly(adenylic acid) segment in mammalian cells. *Biochemistry*, 13, 4633-4637.
- KOZAK M. (1978), How do eucaryotic ribosomes select initiation regions in messenger RNA ? *Cell*, 15, 1109-1110.
- KOBAYASHI T., OHTOMO K., SHIMURA K. (1966), *J. Biochem.*, 60, 578.

- KRAFT N., SHORTMAN K. (1970), A suggested control function for the animal tissue ribonuclease - ribonuclease inhibitor system based on studies of isolated cells and phytohaemagglutinin transformed lymphocytes. *Biochem. Biophys. Acta*, 217, 164-175.
- KROWCZYNSKA A., YENOFKY R., BRAWERMAN G. (1985), Regulation of messenger RNA stability in mouse erythroleukemia cells. *J. Mol. Biol.*, 181, 213-239.
- LEVY G. (1975), Roles of RNases in cellular regulatory mechanisms. *Life Sciences*, 17, 311-316.
- LEVY C.C., SCHMUKLER M., FRANK J.J., KARPETSKY P.T., JEWETT B.P., HIETER P.A., LEGENDRE M.S., DORR R.G. (1975), Possible role for poly(A) as an inhibitor of endonuclease activity in eukaryotic cells. *Nature*, 256, 340-342.
- LIAUTARD J.P., EGLY J.M. (1980), *In vitro* translation studies of the cytoplasmic nonpolyribosomal particles containing messenger RNA. *Nucl. Acids. Res.*, 8, 1793-1804.
- LIZARDI P.M. (1980), Isolation of giant silk fibroin polysomes and fibroin mRNP particles using a novel ribonuclease inhibitor, Hydroxystilbamidine. *J. Cell. Biol.*, 87, 292-296.
- MAEKAWA H., SUZUKI Y. (1980), Repeated turnoff and turnon of fibroin gene transcription during silk gland development. *Dev. Biol.*, 78, 394-406.
- MANROW R.E., JACOBSON A. (1987), Increased rates of decay and reduced levels of accumulation of the major poly(A) associated proteins of *Dictyostelium* during heat shock and development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 1858-1862.
- MEDFORD R.M., WYDRO R.M., NGUYEN H.T., NADALGINARD. (1980), Cytoplasmic processing of myosin heavy chain messenger RNA : Evidence provided by using a recombinant DNA plasmid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 5749-5753.
- MERCER J.F.B., WAKE S.A. (1985), An analysis of the rate of metallothionein poly(A) - shortening using RNA blot hybridization. *Nucleic Acids Res.*, 13, 7929-7943.
- MEYER W.L., LITTLE B.W., FEUSSNER J.R., MEYER D.H. (1970), On the role of neutral hydrolases in muscle protein turnover. *Excerpta Medica. Int. Congr. Ser.*, 240, 195-216.
- MUSCHEL R., KHOURY G., REID L.M. (1986), Regulation of insulin mRNA abundance and adenylation : dependence on hormones and matrix substrata. *Mol. Cell. Biol.*, 6, 337-341.
- NAKAI H., MAXWELL I. H., PIZER L.I. (1982), Herpes virus infection alters the steady state levels of cellular polyadenylated RNA in polyoma virus - transformed BHK cells. *J. Virol.*, 42, 1131-1134.
- OKUYAMA K., SAGATA N., SHTOKAWA., YAMANA K. (1981), Localization of poly(A) sequences that are lost during oocyte maturation of *Xenopus laevis*. *Cell. Struct. Funct.*, 6(3), 279-282.
- PAEK I., AXEL. (1987), Glucocorticoids enhance stability of human growth hormone mRNA. *Mol. Cell. Biol.*, 7, 1496-1507.
- PALATNIK C.M., STORTIR V., CAPONE A.K., JACOBSON A. (1980), Messenger RNA stability in *Dictyostelium discoideum*. Does poly(A) have a regulatory role ? *J. Mol. Biol.*, 141, 99-118.
- PALATNIK C.M., WILKINS C., JACOBSON A. (1984), Translation control during early *Dictyostelium* development : possible involvement of poly(A) sequences. *Cell*, 36, 1017-1025.
- PALMITER R.D. (1974), Magnesium precipitation of ribonucleoprotein complexes expedient techniques for the isolation of undegraded polysomes and messenger RNA. *Biochemistry*, 13, 3606-3615.
- PATERSON B., BISHOP J.O. (1977), Changes in the mRNA population of chick myoblasts during myogenesis *in vitro*. *Cell*, 12, 751-765.
- PELTZ S.W., BREWER G., KOBBS G., ROSS J. (1987), Substrate specificity of the exonuclease activity that degrades H4 histone mRNA. *J. Biol. Chem.*, 262, 9382-9388.
- PENMAN S. (1966), RNA metabolism in the HeLa cell nucleus. *J. Mol. Biol.*, 17, 117-130.
- PREOBRAZHENSKY A.A., SPIRIN A.S. (1978), Informosomes and their protein components : the present state of knowledge. *In Progress in nucleic acid research and molecular biology* (Eds. COHEN W.), 37, Academic Press., New York.
- RESTIFO L.L., GUILD G.M. (1986), Poly(A) shortening of coregulated transcripts in *Drosophila*. *Dev. Biol.*, 115, 507-510.
- SAMARINA O.P., POSVIRNIN V.V., AITKHOAHINA N.A., BESSON J. (1979), Nuclear RNP containing premRNA. XIV Nature of particles containing 5' and 3' end structures. *Mol. Biol. (Mosk)*, 13, 192-204

- SEGURA J.M.G., GAVILANES J.G. (1982), Study of RNA degradating activities during the development of the insect, *Ceratitis capitata*. Comp. Biochem. Physiol., 73(B) 835-838.
- SHEINESS D., DARNELL J.E. (1973), Poly(A) segment in mRNA becomes shorter with age. Nature New Biol., 241, 265-268.
- SOREQ H., SAGAR A.D., SEHGAL P.B. (1981), Translational activity and functional stability of human fibroblast B 1 and B2 interferon mRNA lacking 3' terminal RNA sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 1741-1745.
- SUZUKI Y., BROWN D.D. (1972), Isolation and identification of the messenger RNA for silk fibroin from *Bombyx mori*. J. Mol. Biol., 63, 409-429.
- VINCENT A., GOLDENBERG S., STANDART N., CIVELLIO., SCHERRER I.T., MAUNDRELL K., SCHERRER K. (1981), Potential role of mRNP proteins in cytoplasmic control of gene expression in Duck erythroblast. Mol. Biol. Rep., 7, 71-81.
- WELSH M., NIELSEN D.A., MACKRELL A.J., STEINER D.F. (1985), Control of insulin gene expression in pancreatic B-cells and in an insulin producing cell line. II. Regulation of insulin mRNA stability. J. Biol. Chem., 260, 13590-13594.
- ZEEVI M., NEVINS J.R., DARNELL J.E. (1982), Newly formed mRNA lacking polyadenylic acid enters the cytoplasm and the polyribosomes but has a shorter half-life in the absence of polyadenylic acid. Mol. Cell. Biol., 2, 517-525.

# STABILITE DES ARNm DU SECRETEUR DE LA GLANDE SERICIGENE : ROLE POSSIBLE DES SEQUENCES POLY(A) ET DES PROTEINES ASSOCIEES AUX ARNm

A. SIRONMANI & G. SHANMUGAM

School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625021, Inde.

*En vue d'examiner la possibilité d'une implication des séquences poly(A) et des protéines associées à l'ARNm dans la stabilité, nous avons étudié la longueur des séquences 3' poly(A) de l'ARN digéré par la RNase et la sensibilité des ARN à l'ARN à différents jours du développement larvaire du ver à soie **Bombyx mori**. On a mis en évidence deux catégories de séquences poly(A) de 110 et 120 nucléotides à divers jours du développement. Il n'y a aucune modification dans la taille du poly(A) ; il se peut qu'une taille de 110 à 120 nucléotides soit suffisante pour assurer la stabilité physique et fonctionnelle des ARNm du sécréteur de la glande séricigène. L'évaluation de la sensibilité à la RNase montre que les protéines associées à l'ARN jouent un rôle important dans la protection de l'ARN contre les dégradations.*

## INTRODUCTION

De tous les mécanismes de contrôle post-transcriptionnels, la stabilité de l'ARNm est l'un des plus importants dans le cas de l'expression des gènes de la glande séricigène (Maekawa et Suzuki, 1980; Couble et coll., 1983). Le principal facteur de stabilité de l'ARNm est constitué par les protéines qui interagissent avec l'ARN dans le noyau et le cytoplasme en formant des particules ribonucléoprotéiques (Prebrazhensky et Spirin, 1978 ; Liautard et Egly, 1980). Différentes études suggèrent que le capsulage de l'ARNm facilite son aggrégation aux ribosomes eucaryotes et renforce la stabilité de l'ARNm (Kozak, 1978). D'après les travaux de Palatnik et coll. (1984) et Brawerman (1987), la stabilité fonctionnelle d'un ARNm biologiquement actif dépend de la présence d'une séquence poly(A). Ceci pourrait s'expliquer en termes de maintien de l'intégrité structurelle de la molécule d'ARN par le poly(A) qui inhibe sa dégradation (Levy et coll., 1975 ; Carrezana et coll., 1988 ; Brewer et Ross, 1988). Le niveau de ribonucléase peut également déterminer la stabilité de l'ARN (Kraft et Shortman, 1970 ; Samarina et coll., 1979 ; Segura et Gavilanes, 1982 ; Fominaya et coll., 1984 ; Gileadi et coll., 1984). Sur la base de ces travaux, on a étudié les séquences 3' oligo(A) des ARN du sécréteur digérés par la RNase et leur sensibilité à la RNase à différents jours du cinquième âge larvaire afin de comprendre les facteurs qui gouvernent la stabilité des ARNm de la glande séricigène.

## MATERIELS ET MEHODES

### Produits chimiques :

Le  $^{32}\text{P}$ -orthophosphate (sans entraîneur) a été acheté au Bhabha Atomic Research Centre, Bombay, Inde. La RNase T<sub>1</sub>, la RNase A pancréatique et les autres produits chimiques raffinés ont été fournis par Sigma Chemicals, U.S.A. Tous les autres produits chimiques utilisés sont de grade analar et proviennent de Sarabhai, E. Merck, BDH ou SDS Fine Chemicals, India.

### Prélèvement et élevage des vers à soie :

Des vers à soie du cinquième âge de la souche NB4D2 sont fournis par le Sericulture Department, Madurai. Les larves sont nourries exclusivement de feuilles de mûrier. Des lots de larves synchrones sont utilisés pour toutes les expériences.

### Extraction de l'ARN :

L'ARN total est extrait de la partie postérieure de la glande séricigène aux troisième, cinquième et septième jours du développement larvaire selon la méthode de Suzuki et Brown (1972). L'ARN est précipité deux fois en phase aqueuse à l'éthanol en présence de 0,2 M NaCl. L'ARN précipité est recueilli et dissous dans de l'acétate de sodium à 0,01 M, pH 5.

### Analyse des séquences poly(A) :

Pour caractériser la longueur des séquences poly(A) de l'ARN, on a suivi la méthode d'Aujame et Freeman (1976) à quelques modifications près. Brièvement, les échantillons de 200 µl équivalents à 5-10 unités de D.O. d'ARN à 260 nm dans 0,01 M Tris-HCl, pH 7,5, 0,2 M NaCl et 0,002 M EDTA sont digérés à l'aide de 10 unités/ml de ribonucléase T<sub>1</sub> et 20 µg/ml de ribonucléase pancréatique à 37°C pendant 30 minutes. Après l'incubation, on ajoute 1 ml d'une solution de NaCl 0,1 M, 20 mM acétate de sodium, pH 8,5, et SDS à 0,5 % et le mélange est extrait avec un volume égal de phénol saturé par le tampon à température ambiante (Penman, 1966). Les poly(A) sont précipités avec 2,5 volumes d'éthanol en présence d'acétate de potassium à 0,2 M. Les poly(A) ainsi obtenus sont soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 10 % avec urée 6 M.

### Mesure de la sensibilité à la RNase :

La sensibilité à la RNase est mesurée en suivant la méthode de Ferdinand et Fuller (1970).

### Préparation de l'enzyme :

Les larves sont sacrifiées à différents jours du développement à partir du 1er jour du cinquième âge larvaire. Les sécréteurs sont homogénéisés dans un tampon contenant Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, 25 mM NaCl et 5 mM MgCl<sub>2</sub>. L'homogénat est centrifugé à 27 000 g pendant 45 minutes à 4°C. Le surnageant sert de source de ribonucléase.

### Préparation du substrat :

Les ARN marqués au <sup>32</sup>P-phosphate issus de levures ou du cytoplasme et de RNP polysomiques du sécréteur sont utilisés comme substrats pour mesurer la sensibilité à la RNase.

### Isolement de l'ARN de levure :

Les levures *Saccharomyces cerevisiae* sont cultivées à 28°C dans un milieu contenant 1 % de dextrose, 0,9 % CaCl<sub>2</sub>, 0,04 % MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O et 0,06 % de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La préculture est transférée dans un milieu identique à celui indiqué plus haut et exempt de phosphate pendant 3 heures. Après ce laps de temps, on ajoute 2 mCi de <sup>32</sup>P-phosphate au milieu et les cellules sont remises en culture pendant une heure. Les cellules sont prélevées, lavées et l'ARN est extrait après broyage mécanique à l'aide d'un mélange de corborundum et de célite.

### Préparation des RNP marquées du sécréteur :

Les polysomes libres et liés à la membrane sont préparés suivant les méthodes combinées de Kobayashi et coll. (1966), Palmiter (1974) et Lizardi (1980).

Les RNP sont libérées des polysomes par traitement à l'EDTA 20 mM pendant 15 minutes et les RNP libérées sont lavées en ajustant la concentration en KCl à 500 mM à un volume total de 1 ml pour 10 P.O. à 260 nm de RNP afin de réduire la fixation non spécifique des protéines à l'ARNm (Bag et Sells, 1979). Les RNP lavées par le sel sont recueillies par centrifugation à travers une couche de 5 ml de sucrose à 10 % dans TKM (50 mM Tris-HCl, pH 7,6, 50 mM KCl et 1 mM MgCl<sub>2</sub>) pendant une heure à 36 000 tours/minute. Le culot est suspendu à nouveau dans un tampon TKM.

### Mesure de la sensibilité à la RNase :

Le mélange d'incubation comprend 0,2 ml d'un tampon à 0,2 M Tris-HCl, pH 7,6, 500 µg à 1 500 µg d'ARN/RNP et 1 mg de cytosol (enzyme) dans un volume final de 1 ml. Après l'incubation, on ajoute 1 ml d'HCl 1 M dans de l'éthanol aqueux à 75 % (v/v) et le mélange est maintenu dans la glace pendant 30 minutes. Après centrifugation, on mesure la D.O. à 260 et la radioactivité du surnageant. Des témoins appropriés permettent de déterminer la contribution endogène des nucléotides acido-solubles.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Analyse des poly(A) :

La région de l'ARNm la plus vulnérable au clivage nucléolytique semble se situer à son extrémité poly(A) et sur les séquences non-traduites adjacentes (Bergmann et Brawerman, 1977). Il semble que la stabilité de ces régions constitue un élément décisif pour la détermination de l'expression et du taux de renouvellement de ces molécules. Afin de comprendre la complexité des espèces de d'ARN polyadénylés, on a analysé la longueur des séquences poly(A) de l'ARN au cours du développement. On pense que ces analyses permettront d'indiquer la nature et, éventuellement, les modifications des ARN contenant les séquences poly(A), la séquence poly(A) au cours du développement pouvant également se révéler jouer un rôle fonctionnel dans le développement.

La distribution électrophorétique des séquences poly(A) obtenues à partir de l'ARN total à différents jours du développement est montrée sur la figure 1. Les poly(A) migrent sous la forme de deux bandes dont la longueur de chaîne est de 110 à 120 résidus. La longueur de la séquence poly(A) se maintient tout au long du développement du cinquième âge larvaire. Des résultats similaires ont été obtenus au cours de la myogenèse (Paterson et Bishop, 1977) et de la maturation de l'ovocyte de *Xenopus* (Okuyama et coll., 1981). D'après Sheiness et Darnell (1973), Jeffery et Brawerman (1974) et Palatnik et coll. (1980), à l'état stationnaire, les ARNm *in vivo* retiennent environ 40 à 60 résidus adénylés à leur extrémité poly(A) et cette longueur de poly(A) est généralement suffisante pour assurer la stabilité physique et fonctionnelle des ARN polyadénylés.

En dépit de certains désaccords (Palatnik et coll., 1984 ; Manrow et Jacobson, 1987), la plupart des résultats publiés corroborent l'idée que l'excision de la séquence poly(A) précède la dégradation de l'ARNm dans les cellules des mammifères. Premièrement, les premières séquences poly(A) diminuent avec l'âge (Medford et coll., 1980 ; Okuyama et coll., 1981 ; Brewa et Ross, 1988) et certains ARNm perdent effectivement leur poly(A) avant de se dégrader (Nakai et coll., 1982 ; Colot et Rosbash, 1982 ; Krowczynska et coll., 1985 ; Mercer et Wake, 1985 ; Restifo et Guild, 1986). Deuxièmement, l'addition de poly(A) à certains ARNm désadénylés permet de les stabiliser (Huez et coll., 1978 ; Deshpande et coll., 1979 ; Peltz et coll., 1987 ; Soreq et coll., 1981). Troisièmement, certaines hormones, des sucres et certaines conditions physiologiques stressantes pourraient stabiliser les ARNm recherchés au moyen d'un mécanisme mettant en jeu l'allongement de la séquence poly(A) (Welsh et coll., 1985 ; Muschel et coll., 1986 ; Paek et Axel, 1987 et Carrazana et coll., 1988).

### Sensibilité à la RNase :

De nombreux auteurs envisagent le contrôle de la stabilité de l'ARN par régulation de l'activité ribonucléotique (Kraft et Shortman, 1970 ; Guyette et coll., 1979 ; Vincent et coll., 1981).

La sensibilité à l'ARN de la RNase de levure et des RNP polysomiques chez les vers du cinquième âge larvaire mesurée au moyen de la RNase du sécréteur est montrée dans le tableau I. On observe que la sensibilité de l'ARN de levure à la RNase est plus forte quand on utilise de la RNase issue des derniers jours du développement et qu'environ 50 à 63 % de l'ARN se dégrade. Quand les RNP obtenues à partir du sécréteur sont utilisées comme substrats, la dégradation est beaucoup plus faible (3 % au 1er jour et 50 % à la fin de la période larvaire) que lorsqu'on utilise l'ARN comme substrat. Cette différence peut s'expliquer par l'association de l'ARN avec une protéine capable d'empêcher la dégradation de l'ARN au cours des premiers jours du développement. On peut établir une corrélation évidente entre les niveaux d'ARNm, la sensibilité à la ribonucléase, indirectement l'activité de la RNase, et le développement des larves de ver à soie, comme l'ont observé Segura et Gavinales (1982) chez *Ceratitis capitata* et Meyer et coll. (1970) chez le moustique de la fièvre jaune.

*Anaphelis aegypti*. Levy et coll. (1975) ont proposé un modèle qui permettrait d'expliquer la stabilité et la dégradation finale de l'ARNm eucaryotique. D'après ce modèle, la stabilité est due à la formation d'un complexe inhibiteur entre la RNase et la séquence poly(A) terminale de l'ARN. La destruction finale de l'ARNm serait assurée soit par l'accumulation de polyamines, soit par la réduction progressive de la taille de la séquence poly(A) (Greenberg et Perry, 1972 ; Blobel, 1973 ; Bergmann et Brawermann, 1977 ; Baer et Korenberg, 1980 ; Adam et coll., 1986 ; Brewer et Ross, 1988) s'accompagnant d'une réduction concomitante de son pouvoir inhibiteur.

Ces résultats montrent de manière évidente que, puisqu'il n'y a pas diminution de la taille du poly(A) au cours des différents jours du développement, la taille de 110 à 120 nucléotides peut suffire à assurer la stabilité physique et fonctionnelle des ARNm du sécréteur. Les résultats obtenus par mesure de la sensibilité à la RNase montrent que les protéines associées à l'ARN jouent un rôle déterminant dans la prévention de la dégradation de l'ARN.

Cependant, les variations de l'ARNm de la fibroïne au cours du cycle de mue suggèrent que l'ecdysone (Calvez et coll., 1976) et l'hormone juvénile (Daillie, 1979) en régissant le développement larvaire, régulent la stabilité de l'ARNm. En outre, l'existence d'un signal alimentaire (Couble et coll., 1983) ne peut être écartée. Cependant, la signification fonctionnelle et les mécanismes sous-jacents des facteurs physiologiques gouvernant la stabilité des ARNm restent à déterminer.

## PROANTHOCYANIDINS IN THE COCOON SHELL OF THREE *ANTHERAEA* SPECIES

R. K. PANDEY\* & R. K. GOEL

Central Tasar Research and Training Institute, Research Extension Centre, Bir 176 077, Kangra,  
Himachal Pradesh, India.

**Keywords :** *Antheraea* cocoon shell, tannins.

Non-mulberry silkworms such as *Antheraea mylitta* and *A. proylei* are reared on the leaves of *Terminalia* and *Quercus*, respectively (Sengupta, 1987). These host plant leaves are reported to contain tannins (Lohan *et al.*, 1980). The ingestion of tannins has been shown to interfere with the normal growth and development in many foliage feeding insects (Bernays, 1981 ; Bahl and Pandey, 1988a). An investigation of tannins in cocoon shell has been lacking. In the present work, we have performed proanthocyanidins assay on extracts of dry cocoon shells of three *Antheraea* sp.

Wild cocoons of *Antheraea roylei* Moore were collected from the forests of *Quercus semecarpifolia* at Billing (Himachal Pradesh). Cocoons of *A. mylitta* Drury were obtained from C.T.R. & T.I. Ranchi. *A. proylei* Jolly larvae were reared by the authors on different *Quercus* species available at different altitudes in sub-Himalayan India.

Six cocoons were picked up at random from a group of cocoons for each category from different sites. Isolated shells were dried up to a constant weight at 60°C. The shells were further cut into small pieces with a blade and 25 mg sample from each cocoon was taken for determination of proanthocyanidins by addition of 3 ml of FeSO<sub>4</sub> - butanol - HCl reagent according to Martin and Martin (1982). The results were expressed as bisulphited quebracho equivalent.

The proanthocyanidins concentrations in the cocoon shell of *Antheraea mylitta*, *A. roylei* and in four categories of *A. proylei* cocoons are presented in Table I. The content of proanthocyanidins was significantly higher in *A. roylei*. The proanthocyanidin content of various *A. proylei* cocoons ranged from  $48.51 \pm 2.86$  and  $14.46 \pm 0.10$  depending upon the host species in the order *Quercus leucotrichophora* > *Q. semecarpifolia* > *Q. floribunda* > *Q. serrata*. These proanthocyanidins were not detectable in the compact cocoon shell of *Bombyx mori* (mulberry-fed silkworm).

Proanthocyanidins (condensed tannins) are oligomers and polymers of hydroxy - flavone units, typically having molecular weights of 300-6000 daltons (Swain, 1979). They form insoluble complexes with proteins, a property which has significant ecological consequences (Zucker, 1983). The presence of these condensed tannins in *Antheraea* cocoon shells as shown in this work, may involve interference of tannins with the dissolution of sericin during the reeling process. Due to insoluble tannin protein complexes, these non-mulberry cocoons of tasar are cooked for reeling purposes by enzymatic (Ghosh and Roy, 1983) and alkaline methods with hydrogen peroxide (Tikoo and Goel, 1987 ; Bahl and Pandey, 1988b).

---

\* Presently, Senior Research Officer, Regional Tasar Research Station, Imphal - 795 002 (Manipur), India.

Table I. Proanthocyanidins in the shell of *Antheraea* cocoon.Tableau I. Contenus en proanthocyanidines dans la coque des cocons d'*Antheraea*.

| Silkworm                 | Host plant                    | Proanthocyanidins * $\mu\text{g}/25 \text{ mg}$<br>dry shell    |
|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Ver à soie               | Plante-hôte                   | Proanthocyanidines * $\mu\text{g}/25 \text{ mg}$<br>coque sèche |
| <i>Antheraea mylitta</i> | <i>Terminalia arjuna</i>      | 11.54 $\pm$ 2.1                                                 |
| <i>A. roylei</i>         | <i>Quercus semecarpifolia</i> | 106.21 $\pm$ 0.58                                               |
| <i>A. proylei</i>        | <i>Q. leucotrichophora</i>    | 48.51 $\pm$ 2.86                                                |
|                          | <i>Q. semecarpifolia</i>      | 23.48 $\pm$ 3.94                                                |
|                          | <i>Q. floribunda</i>          | 17.76 $\pm$ 2.96                                                |
|                          | <i>Q. serrata</i>             | 14.46 $\pm$ 0.10                                                |

\*  $\mu\text{g}$  bisulphited quebracho equivalent / Equivalent en quebracho bisulfité en  $\mu\text{g}$ .  
( $\bar{X} \pm \text{S.D.}$ ,  $n = 6$ )

This hypothesis is substantiated by the fact that mulberry-fed cocoons do not contain these tannins and reeled easily after cooking in plain boiling water. The outer shell of *A. roylei*, which contains maximum content of proanthocyanidins, is not at all reelable. *Quercus serrata*-fed cocoons of *A. proylei* show reelability up to 63.61 % after alkaline cooking with hydrogen peroxide (Tikoo and Goel, 1987). Hydrogen peroxide is a powerful oxidising agent, which oxidise tannins to quinones and releases tannin's capacity to bind proteins by hydrogen bonding (Wah *et al.*, 1977).

### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. H.P.S. Makkar, Scientist, I.V.R.I., Regional Station, Palampur, for help in the estimation of condensed tannins.

### REFERENCES

- BAHL R. K., PANDEY R. K. (1988a), Influence of condensed tannins on cocoon yield in oak tasar silkworm rearing on *Quercus incana* Roxb. *Sericologia* 28(2), 221-224.  
 BAH L R. K., PANDEY R. K. (1988b), Wet reeling of oak tasar cocoons with improved charkha. *Sericologia* 28(3), 403-410.  
 BERNAYSE A. (1981), Plant tannins and insect herbivores: an appraisal. *Eco. Entomol.*, 6, 353-360.  
 GHOSH S. S., ROY S. (1983), Tasar cocoon processing and reeling. *Indian Silk*, May, 13-18.  
 LOHAN O. P., LALL D., PAL R. N., NEGI S. S. (1980), Note on tannins in tree fodders. *Indian J. Anim. Sci.*, 50, 881-883.  
 MARTIN J. S., MARTIN M. M. (1982), Tannin assays in ecological studies: lack of correlation between phenolics, proanthocyanidins and protein precipitating constituents in mature foliage of six oak species. *Oecologia* (Berl.), 54, 205-211.

- SENGUPTA K. (1987), Current status of non-mulberry sericulture and its future development. *Sericologia*, 27(3), 475-480.
- SWAIN T. (1979), Tannins and lignins, p. 657-682. In G.A. Rosenthal and O.H. Janzen (eds.) *Herbivores : their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York.
- TIKOO B. L., GOEL R. K. (1987), Wet system of reeling in oak tasar silk industry. *Indian Silk*, 26, 23-24.
- WAH C. S., SHARMA K., JACKSON M. G. (1977), Studies of various chemical treatment of silkworm seed meal to remove or inactivate tannins. *J. Anim. Sci.*, 47, 8-12.
- ZUCKER W. F. (1983), Tannins : Does structure determine function ? an ecological perspective. *Am. Nat.*, 121, 335-365.

## PROANTHOCYANIDINES DE LA COQUE SOYEUSE DE TROIS ESPECES D'ANTHRAEA

R.K. PANDEY\* & R.K. GOEL

Central Tasar Research & Training Institute, Research Extension Centre, Bir 176 077, Kangra,  
Himachal Pradesh, Inde.

Les vers à soie non mûriers comme *Antheraea mylitta* et *Antheraea proylei* se nourrissent respectivement de feuilles de *Terminalia* et de feuilles de *Quercus* (Sengupta, 1987). On a observé que les feuilles de ces plantes-hôtes contenaient des tannins (Lohan et coll., 1980). On a démontré que l'absorption de tannins affectait la croissance normale et le développement de nombreux insectes herbivores (Bernays, 1981 ; Bahl et Pandley, 1988). Aucune recherche n'a été faite sur la présence des tannins dans la coque soyeuse. Dans cette étude, nous avons procédé à un dosage des proanthocyanidines sur des extraits de coques soyeuses sèches de trois espèces d'*Antheraea*.

Les cocons sauvages d'*Antheraea roylei* Moore ont été prélevés dans les forêts de *Quercus semercarpifolia* de Billing (Etat d'Himachal Pradesh). Les cocons d'*Antheraea mylitta* Drury ont été fournis par le Central Tasar Research & Training Institute de Ranchi. Les larves d'*Antheraea proylei* Jolly ont été élevées par les auteurs sur plusieurs variétés de *Quercus* que l'on trouve à différentes altitudes de l'Inde sub-himalayenne.

Six cocons de chacune des espèces sont prélevés au hasard sur différents sites. Les coques sont séchées individuellement jusqu'à un poids constant à une température de 60°C. Puis elles sont ensuite coupées en petits morceaux à l'aide d'une lame et on prélève un échantillon de 25 mg sur chaque cocon afin de déterminer le contenu en proanthocyanidines par addition de 3 ml d'un agent réactif composé de FeSO<sub>4</sub> - butanol - HCl suivant la méthode de Martin et Martin (1982). Les résultats sont exprimés en équivalent quebracho bisulfité.

Les concentrations de proanthocyanidines dans la coque soyeuse des cocons d'*Antheraea mylitta*, *Antheraea roylei* et quatre variétés d'*Antheraea proylei* sont présentées dans le tableau I. Le contenu en proanthocyanidines est nettement plus élevé chez *Antheraea roylei*. Le contenu en proanthocyanidines de divers cocons d'*Antheraea proylei* varie de 48,51 ± 2,86 à 14,46 ± 0,10, en fonction de l'espèce hôte dans l'ordre suivant : *Quercus leucotrichophora* > *Q. semercarpifolia* > *Q. floribunda* > *Q. serrata*. On ne peut détecter la présence de ces proanthocyanidines dans la coque compacte de *Bombyx mori* (ver à soie du mûrier).

Les proanthocyanidines (tannins condensés) sont des oligomères et des polymères d'hydroxy-flavone qui ont un poids moléculaire type de 300 à 6 000 daltons (Swain, 1979). Ils forment

---

\* Adresse actuelle : Senior Research Officer, Regional Tasar Research Station, Imphal 795 002 (Manipur), Inde.

des complexes non solubles avec les protéines, propriété qui a des conséquences écologiques significatives (Zucker, 1983). Il se peut que la présence de ces tannins condensés dans les coques d'*Antheraea*, ainsi qu'il est montré dans cette étude, interfère dans la dissolution de la séricine au cours du processus de dévidage. En raison des complexes protéines-tannins insolubles, ces cocons non-mûriers tasars sont cuits en vue du dévidage par des méthodes enzymatiques (Gosh et Roy, 1983) et alcalines avec de l'eau oxygénée (Tikoo et Goel, 1987 ; Bahl et Pandey, 1988b).

Cette hypothèse est corroborée par le fait que les cocons obtenus par nourrissage avec le mûrier ne contiennent pas ces tannins et sont faciles à dévider après simple cuisson dans l'eau bouillante. La coque extérieure d'*Antheraea roylei* qui contient un taux maximum de proanthocyanidines n'est absolument pas dévidable. Les cocons d'*A. proylei* nourris sur *Quercus serrata* sont dévidables jusqu'à 63,61 % après cuisson dans une solution alcaline contenant du peroxyde d'hydrogène (Tikoo et Goel, 1987). Le peroxyde d'hydrogène est un puissant agent oxydant, qui oxyde les tannins en quinones et élimine la capacité des tannins à former des ponts hydrogènes avec les protéines (Wah et coll., 1977).

## PARASITES OF UZI FLY, *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE) VII. NEW RECORD ON THE ALTERNATE HOSTS OF PARASITES OF UZI FLY.

P. KUMAR & A. KUMAR

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

The uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) is a serious endoparasite of silkworm larvae, *Bombyx mori* L. (Jolly, 1981). Lately, eight hymenopteran parasites, viz. *Brachemeria lugubris* Walker, *Dirhinus himalayanus* Westwood (Chalcididae), *Nesolynx thymus* (Girault) (Eulophidae), *Spilomicrus karnatakensis* Sharma (Diapriidae), *Exoristobia philippinensis* Ashmead (Encyrtidae), *Spalangia cameroni* Perkins, *Pachycrepoideus vindimae* (Pteromalidae), *Dirhinus* sp. (Chalcididae) have been reported under biological control programme of the uzi fly (Samson and Remadevi, 1985 ; Kumar *et al.*, 1986, 1988a, 1988b, 1989, 1990).

*B. lugubris* is also reported to be parasitic on *Atteva fabriciella* Swed. (Yponomeutidae) (Joseph *et al.*, 1973). *D. himalayanus* has been reported to parasitize many unidentified Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae and Tachinidae (Boucek and Narendran, 1981). Boucek (1976) reported *N. thymus* as a parasite of various unidentified lepidoterans and hyper parasites of lepidopterans through dipterans. The only reported host of *S. karnatakensis* and *D. sp.* is *E. sorbillans* (Tachinidae) (Kumar *et al.*, 1988a, 1990). *E. philippinensis* has been reported to parasitize *Musca domestica* L. (Muscidae) (Ashmead, 1904) and *Satara nitens* (Lepidoptera), *Stomatomyia bezziana* Bart, *Exorista dispar* Macquart (Tachinidae), *Sarcophaga* sp. (Sarcophagidae), *Apanteles* sp. (Braconidae) (Subba Rao, 1971). *S. Cameroni* and *P. vindimae* have been reported to parasitize many unidentified dipterans (Perkins, 1980).

The knowledge of alternate hosts of parasites is extremely necessary for their successful use in the biological control programme of any host species. Here we are reporting the new alternate hosts of parasites of the uzi fly studied under the control programme of this fly.

*N. thymus* and *S. karnatakensis* have also been recorded as pupal parasites of *Blepharipa zebina* (Tachinidae), *Musca domestica* L. (Muscidae), *Chrysomya ruficornis* (Calliphoridae) and an unidentified calliphoridae. *E. philippinensis* recorded to be parasitic on the pupae of *C. ruficornis* and unidentified calliphoridae. *D. sp.* has been recorded as a pupal parasite of *M. domestica*.

**Keywords :** Hyperparasite, alternate host, *Exorista sorbillans*, *Bombyx mori*, Tachinidae.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Dr. K.M. Harris, Director, Commonwealth Institute Entomology, London, for identification of dipterans.

# REFERENCES

- ASHMEAD W. H. (1904), A list of Hymenoptera of the Philippine island with description of new species. Jour. New York Ento. Soc., 12, 1-22.
- BOUCEK Z. (1976), Eulophidae from Africa. Entomophaga, 21, 404-405.
- BOUCEK Z., NARENDRA T.C. (1981), Syst. Entomol., 6, 229.
- JOLLY M. S. (1981), Uzi fly : its identification, prevention and control. C.S.R. & T.I., Mysore, p.1.
- JOSEPH K.J., NARENDRA T. C., JOY P. J. (1973), Oriental brachymeria zoological monograph, I. Department of Zoology, University of Calicut, p. 60.
- KUMAR P., REDDY V. V., SAMSON M. V., JOLLY M. S. (1986), Record of a new hyperparasite of *Tricholyga bombycis* Beck., (Diptera : Tachinidae), a larval parasite of *Bombyx mori*. Curr. Sci., 55, 1040-1041.
- KUMAR P., REMADEVI O. K., NOAMANI M. K. R., JOLLY M. S. (1988a), Record of a new pupal parasite, *Spilomicrus karnatakensis* Sharma, of *Tricholyga bombycis* Beck., Sericologia, 28, 415-416.
- KUMAR P., REMADEVI O. K., SINGH B. D., JOLLY M. S. (1988b), A new record on a pupal endoparasite, *Exoristobia philippinensis* of the uzi fly, a serious parasite of silkworm. Curr. Sci., 58, 212.
- KUMAR P., KUMAR A., NOAMANI M. K. R., SENGUPTA K. (1989) Parasites of Uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) A new record. Curr. Sci., 58, 821-822..
- KUMAR A., KUMAR P., SINGH B.D., SENGUPTA K. (1990) Parasites of uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) VI. Record of a new *Dirhinus* sp. on uzi fly and notes on its biology. Sericologia (accepted).
- PERKINS R. C. (1980), *Spalangia cameroni* Perkins (Pteromalidae). *Fauna hawaiiensis* suppliment to Hymenoptera. 2, p. 656.
- SAMSON M. V., REMAVADI O. K. (1985) A new record on the parasites of uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck., Curr. Sci., 54, 1144.
- SUBBA RAO B. R. (1970), A redescription of *Exoristobia* Ashmead and description of two new species (Hymenoptera : Eneurytidae). Proc. R. Ent. Soc. Lond. (B), 39, 109-113.

## PARASITES DE LA MOUCHE UZI *EXORISTA SORBILLANS* WIEDEMANN (DIPTERA : TACHINIDAE) VII. NOUVELLES DONNEES SUR LES HOTES ALTERNATIFS DES PARASITES DE LA MOUCHE UZI

P. KUMAR & A. KUMAR

Central Sericultural Research and Training Institute, Sri Ram Puram, Mysore 570 008, Inde.

La mouche uzi *Exorista sorbillans* Wiedmann (Diptera : Tachinidae) est un dangereux endoparasite des larves du ver à soie *Bombyx mori* L. (Jolly, 1981). Récemment, huit parasites hyménoptères, à savoir : *Brachymeria lugubris* Walker, *Dirhinus himalayanus* Westwood (Chalcididae), *Nesolynx thymus* (Girault) (Eulophidae), *Spilomicrus karatakensis* Sharma (Diapriidae), *Exoristobia philippinensis* Ashmead (Encyrtidae), *Spalangia cameroni* Perkins, *Pachycrepoideus vindimae* (Pteromalidae), *Dirhinus* sp. (Chalcididae), ont été découverts au cours du programme de lutte biologique contre la mouche uzi (Samson et Remadevi, 1985 ; Kumar et coll., 1986, 1988a, 1988b, 1989, 1990).

*B. lugubris* est aussi un parasite d'*Atteva fabriciella* Swed. (Yponomeutidae) (Joseph et coll., 1973). On a également observé que *D. himalayanus* était un parasite de divers Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae et Tachinidae non identifiés (Boucek et Narendran, 1981). Boucek (1976) a observé que *N. thymus* est aussi un parasite de divers lépidoptères non identifiés et un hyperparasite des lépidoptères et des diptères. Le seul hôte observé chez *S. karnatakensis* et *D. sp.* est *E. sorbillans* (Tachinidés) (Kumar et coll., 1988a, 1990). *E. philippinensis* est un parasite de *Musca domestica* L. (Muscidae) (Ashmead, 1904) et de *Satara nitens* (Lepidoptera), *Stomatomyia bezziana* Bart, *Exorista dispar* Macquart (Tachinidae), *Sarcophaga* sp. (Sarcophagidae), *Apanteles* sp. (Braconidae) (Subba Rao, 1971). On a observé que *S. cameroni* et *P. vindimae* sont des parasites pour de nombreux diptères encore non identifiés (Perkins, 1980).

La connaissance d'hôtes de substitution de parasites est tout à fait nécessaire pour les utiliser avec succès dans les programmes de lutte biologique, quel que soit l'hôte. Nous indiquons ici les nouveaux hôtes de substitution des parasites de la mouche uzi dans le cadre du programme de lutte contre cet insecte.

*N. thymus* et *S. karnatakensis* ont également été signalés comme des parasites nymphaux de *Blepharipa zebina* (Tachinidae), *Musca domestica* (Muscidae), *Chrysomya ruficorinis* (Calliphoridae) et d'un Calliphoridae non identifié. D'autre part, *E. philippinensis* est un parasite des pupes de *C. ruficorinis* et de Calliphoridae non identifiés. *D. sp.* a été identifié comme parasite pupal de *M. domestica*.

## STUDIES ON THE INFLUENCE OF THE GAS OF UNYSM DIMETHYLHYDRAZINE (UDMH) ON MULBERRY AND THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

YANG D.Z., XU W.Q., LIU G.F., ZENG J. & SON R.S.

Sericultural Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, China.

**Keywords :** UDMH, silkworm, mulberry, threshold.

### INTRODUCTION

UDMH,  $(\text{CH}_3)_2\text{N.NH}_2$ , was a highly powerful fuel for rockets. It was an ingredient of waste gases, coming from launching rockets, which could pollute the air and water on the ground and impair the cotton and legumes (Heek, 1963 ; Hover, 1964). This paper reports the influence of UDMH-gas on sericulture.

### MATERIALS AND METHODS

In order to determine the influence of UDMH-gas on sericulture, the following test was carried out, potted mulberry and 1st instar larvae of the silkworm in the flowing-fumigation-chamber ( $2\text{ m}^3$ ) were treated with a flow of UDMH-gas for 1 hr. (Fig. 1).

The concentration of UDMH in the testing chamber and the mulberry leaves was measured by the standard TPM method, from the Ministry of Spaceflight of China. The changes of physiology and toxicology in the mulberry leaves and the silkworm larvae treated with UDMH were investigated by the general paraffine cutting method for the leaves and by the biological test method for larvae.

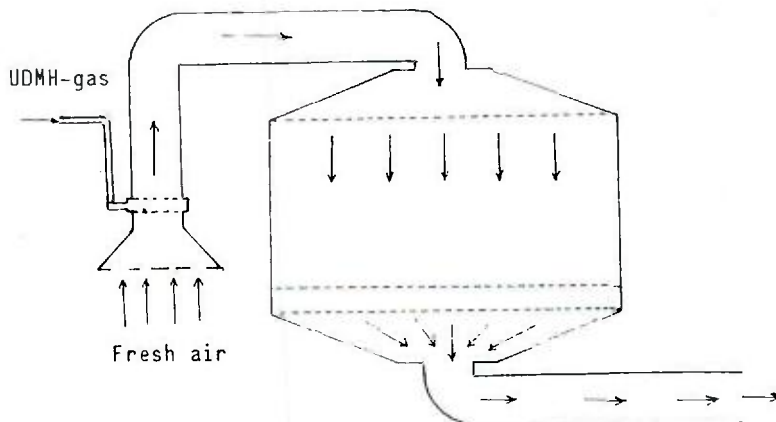


Fig. 1 : Flowing fumigation chamber.

Fig. 1 : Chambre fumigatoire à écoulement.



Point symptoms between the leaf veins.

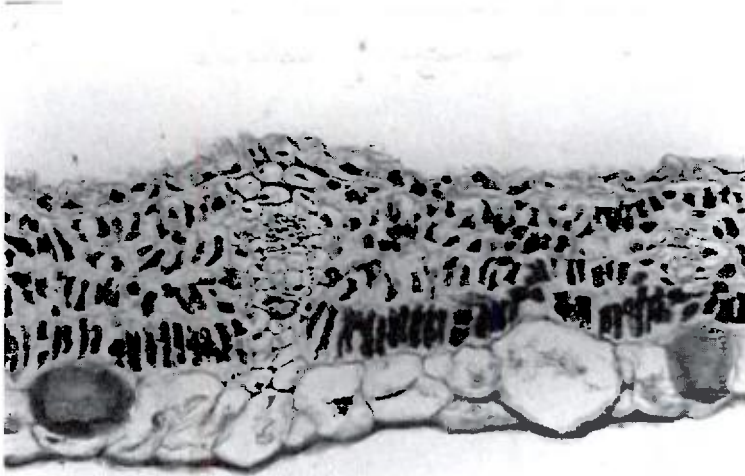
Symptômes apparaissant sous forme de tâches entre les nervures des feuilles.



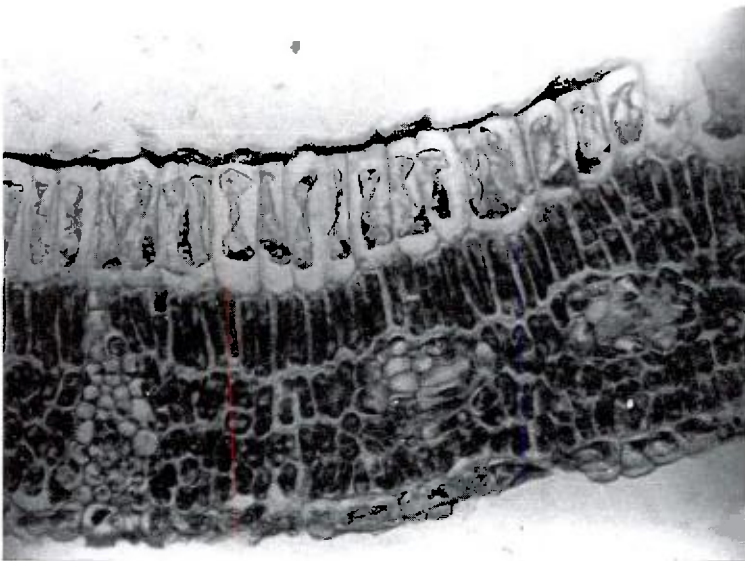
CK

**Fig. 2 : Damaged mulberry leaves after treatment with UDMH-gas.**

**Fig. 2 : Feuilles de mûriers endommagées après traitement au gaz UDMH.**



Structure of damaged mesophyll cells / *Structure des cellules du mésophylle endommagées.*



CK

Fig. 3 : Changes of structure in mulberry leaves after treatment with UDMH-gas.

*Fig. 3 : Modification de la structure des feuilles de mûrier après traitement avec le gaz UDMH.*

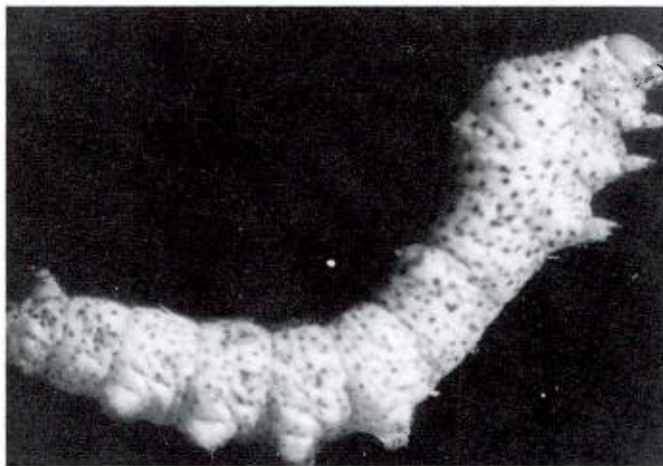


**Fig. 4 : Point symptom on the body of the larva after treatment with UDMH-liquid.**

*Fig. 4 : Symptômes apparaissant sous forme de tâches sur le corps de la larve après traitement au gaz UDMH.*

## RESULTS AND DISCUSSION

1) In the mulberry leaves which were exposed to UDMH-gas some effects appeared for growth, such as marked point symptoms between leaf veins (fig. 2), the structure of the damaged mesophyll cells (fig. 3), an increase in the electric conductivity of leaf extract and a decrease in chlorophyll content. Meanwhile, the UDMH in the leaves could be detected by TPF method. On the contrary, no effect on the mulberry growth and mesophyll cell structure could be found in the control (Fig. 2, Fig. 3, CK).

2) The normal larvae which fed on the contaminated leaves appeared unhealthy and some of them could be killed by toxicity of UDMH when the concentration of it reached as high as  $59.78 \text{ mg/m}^3$ . Some of them could show marked point symptoms on the surface of the larvae when the dose of UDMH reached as high as  $3603\text{-}720 \text{ }\mu\text{g/g}$  (body weight), (Fig. 4). The larvae could be killed when the dose of UDMH reached over  $14413 \text{ }\mu\text{g/g}$ .

3) It had no influence on the growth of healthy worms which were reared in the given experiment concentration of UDMH-gas if they fed on normal leaves.

4) The maximum limit of the concentration is  $0.135 \text{ mg/m}^3$  for safe growth of both leaves and worms, and the maximum limit of the concentration of physiological toxication to the mulberry leaves was  $0.145 \text{ mg/m}^3$ .

The  $5 \text{ mg/m}^3$  was the threshold concentration to appear injurious on both the leaves and the silkworms. The LD 50 to 3rd instar silkworm larvae was  $15.99 \text{ }\mu\text{g/g}$  (body weight). According to statistical analysis, there were significant correlations between UDMH-gas concentration and symptoms as well as between the concentration and the growth of mulberry leaves.

It showed that the UDMH-gas has a lower degree of toxicity to sericulture.

## ETUDES SUR L'INFLUENCE DU GAZ UNYSM DIMETHYLHYDRAZINE (UDMH) SUR LE MURIER ET LE VER A SOIE *BOMBYX MORI*

YANG D.Z., XU W.Q., LIU G.F., ZENG J., SON R.S.

Sericultural Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Chine.

### INTRODUCTION

L'UDMH ( $\text{CH}_3$ )<sub>2</sub>N.NH<sub>2</sub> est un combustible puissant pour fusées. Il s'agit d'un composant de déchets gazeux, provenant de lancement de fusées, qui pollue l'air et l'eau sur le sol et endommage le coton et les légumes (Heek, 1963 ; Hover, 1964). Cet article montre l'influence du gaz UDMH en sériciculture.

### MATERIELS ET METHODES

Le test suivant a été réalisé afin de déterminer l'influence du gaz UDMH en sériciculture. Un mûrier en pot et des larves de vers à soie au 1<sup>er</sup> stade sont traités avec du gaz UDMH pendant une heure dans une chambre fumigatoire à écoulement de 2 m<sup>3</sup> (Fig. 1).

La concentration de gaz UDMH dans la chambre d'expérimentation et les feuilles de mûrier est mesurée à l'aide de la méthode standard TPM du Ministère de l'Espace en Chine. Les variations physiologiques et toxicologiques engendrées chez les feuilles de mûrier et les larves de vers à soie sont mesurées, d'une part, par l'observation de coupes à la paraffine pour les feuilles et, d'autre part, à l'aide du test biologique pour les larves.

### RESULTATS ET DISCUSSION

1) Dans les feuilles de mûrier exposées au gaz UDMH, certains symptômes apparaissent dans la croissance, tels que des marques entre les nervures des feuilles (Fig. 2), la structure endommagée des cellules du mésophylle (Fig. 3) une augmentation de la conductivité de l'électricité dans l'extrait de feuille et une diminution du contenu en chlorophylle. La présence de gaz UDMH dans les feuilles peut être détectée par la méthode TPF. Aucun effet sur la croissance du mûrier et la structure des cellules du mésophylle n'a été constaté chez les témoins (Fig. 2, Fig. 3, CK).

2) Les larves normales nourries sur des feuilles contaminées sont malades et certaines d'entre elles peuvent être tuées par la toxicité du gaz UDMH lorsque sa concentration atteint 59.78 mg/m<sup>3</sup>. Certaines d'entre elles présentent des symptômes apparaissant sous forme de tâches sur leur surface lorsque la dose d'UDMH atteint 3 603-720 µg/g (poids du corps, fig. 4). La larve peut être tuée lorsque la dose d'UDMH est supérieure à 14 413 µg/g.

3) Le gaz n'a pas d'influence sur la croissance des vers sains élevés dans cette concentration donnée de gaz UDMH si ceux-ci sont nourris sur des feuilles normales.

4) La limite maximum de concentration est de 0,135 mg/m<sup>3</sup> pour une croissance normale tant

des feuilles que des larves et la limite maximum de la concentration d'intoxication physiologique des feuilles de mûriers est de  $0,145 \text{ mg/m}^3$ .

La concentration  $5 \text{ mg/m}^3$  est la concentration limite pour l'apparition des symptômes tant chez les feuilles que chez les larves. La DL 50 pour les larves de vers à soie au 3ème âge est de  $15,99 \text{ } \mu\text{g/g}$  (poids du corps). D'après les analyses statistiques, il existe une corrélation entre la concentration de gaz UDMH et les symptômes et la concentration et la croissance des feuilles de mûrier.

Cette étude montre que le gaz UDMH a un degré faible de toxicité en sériciculture.

## FIELD TRIALS OF RESHAMKEET OUSHADH ON THE COCOON YIELD OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

M. BAIG, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA, B.D. SINGH,  
T.O. SASIDHARAN & M.K.R. NOAMANI

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

*Intensive field trials of Reshamkeet Oushadh were conducted on the cocoon crop of the silkworm. The field trial was based on two experimental designs viz., (i) Control and Treatment batches were maintained in separate houses (ii) Control and treatment batches were kept in the same rearing house. The first set trial involved 174 crops and on an average, a net improvement of 10.443 kg/100 dfls. over the control was recorded. In the second set, 51 crops were involved and the treatment resulted in 7.297 kg with an 18.77 % improvement in yield over the control. Results show that the formulation is highly effective in increasing the production of cocoon crop in field conditions.*

**Keywords :** *Bombyx mori* L., Reshamkeet Oushadh, field trials, control, treatment, dusting, cocoon yield, improvement.

### INTRODUCTION

Muscardine and grasserie are the most common diseases of the silkworm, *Bombyx mori* L., caused by fungus and virus respectively. Efficacy of certain fungicides viz., Captan, Dithane M45 and other disinfectants for the control of white muscardine was studied by Samson *et al.* (1986). The dusting of some fungicidal combinations viz., kinuban, kabinoran, pafusol, shinshi dust, sosan and chemichlon etc., were suggested in Japan against muscardine (Kasiviswanathan, 1974). Baig *et al.* (1988) screened a number of bed disinfectants and their combinations against the nuclear polyhedrosis of the silkworm. However, a single formulation of bed disinfectants for the prevention of both muscardine and nuclear polyhedrosis was not available. In the present study a formulation developed and named as "Reshamkeet Oushadh" by Central Silk Board, India, which is a combination of captan, paraformaldehyde, benzoic acid and slacked lime powder (1 : 1 : 2 : 96) was tested at the level of sericulturists in the villages of Karnataka for its efficacy on the cocoon yield.

### MATERIALS AND METHODS

The experiment was designed in two sets. In the first set, the trial was conducted keeping control and treatment batches in different sericulturists crops where the rearing conditions were more or less similar. This trial was conducted during three seasons viz., winter, summer and rainy. In the second set, the treatment and control were kept in the house of the same sericulturists wherein 50 % of the crop was dusted with Reshamkeet Oushadh and other 50 % was maintained as untreated control. In treatment batches, the dusting of Reshamkeet Oushadh was done by using a thin muslin cloth, half an hour before resumption of feed after every moult. One additional dusting was also given on the 4th day of 5th stage after thorough bed cleaning and the total quantity required for 100 dfls. is 3.26 kg. In first set of experiment, a total of 174 farmers were covered with 87 as control (7683 dfls.) and 87

Table I. Area-wise and seasonwise cocoon yield on field trials of Reshamkeet Oushadh (treatment and control maintained with separate sericulturists).

Tableau I. Rendement en cocons en fonction du lieu et de la saison dans les exploitations séricicoles traitées avec le Reshamkeet Oushadh (traités et témoins sont élevés par différents sériciculteurs).

| Sl. no.<br>N° de série | Season<br>Saison             | Centre/area<br>Centre/lieu         | No. of sericulturists' crops tested<br>Nb. de récoltes testées |                    | No. of dfls. tested<br>Nb. de pontes saines testées |                    | Yield/100 dfls. (kg)<br>Rendement pour 100 pontes saines |                    | Improvement in yield (kg)<br>Augmentation du rendement (en kg) | Improvement in yield (%)<br>Augmentation du rendement (en %) |
|------------------------|------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
|                        |                              |                                    | Control<br>Témoins                                             | Treated<br>Traités | Control<br>Témoins                                  | Treated<br>Traités | Control<br>Témoins                                       | Treated<br>Traités |                                                                |                                                              |
| 1                      | Winter<br>Hiver              | Lalgondahalli                      | 5                                                              | 5                  | 1235                                                | 655                | 46.31                                                    | 53.98              | 7.670                                                          | 16.56                                                        |
|                        |                              | Bidaraguppe                        | 14                                                             | 14                 | 1456                                                | 1652               | 43.36                                                    | 61.65              | 18.290                                                         | 42.18                                                        |
|                        |                              | K.P. Doddi                         | 22                                                             | 22                 | 1050                                                | 1250               | 42.68                                                    | 46.48              | 3.800                                                          | 8.90                                                         |
|                        |                              | Chamarajanagar                     | 3                                                              | 3                  | 400                                                 | 400                | 28.98                                                    | 33.90              | 4.920                                                          | 16.98                                                        |
|                        |                              | Total / Average                    | 44                                                             | 44                 | 4141                                                | 3957               | 42.37                                                    | 51.30              | 8.930                                                          | 21.08                                                        |
|                        |                              | Total / Moyenne                    |                                                                |                    |                                                     |                    |                                                          |                    |                                                                |                                                              |
| 2                      | Summer<br>Eté                | Bidaraguppe                        | 5                                                              | 5                  | 525                                                 | 375                | 23.628                                                   | 53.680             | 30.052                                                         | 127.19                                                       |
|                        |                              | K.P. Doddi                         | 13                                                             | 13                 | 892                                                 | 825                | 29.764                                                   | 32.595             | 2.831                                                          | 9.51                                                         |
|                        |                              | Total / Average                    | 18                                                             | 18                 | 1417                                                | 1200               | 28.600                                                   | 38.452             | 9.852                                                          | 34.45                                                        |
|                        |                              | Total / Moyenne                    |                                                                |                    |                                                     |                    |                                                          |                    |                                                                |                                                              |
| 3                      | Rainy<br>Saison<br>pluvieuse | Bidaraguppe                        | 10                                                             | 10                 | 950                                                 | 730                | 36.800                                                   | 64.000             | 27.200                                                         | 73.91                                                        |
|                        |                              | K.P. Doddi                         | 15                                                             | 15                 | 1175                                                | 1100               | 43.136                                                   | 47.558             | 4.422                                                          | 10.25                                                        |
|                        |                              | Total / Average                    | 25                                                             | 25                 | 2125                                                | 1830               | 40.602                                                   | 54.135             | 13.533                                                         | 33.33                                                        |
|                        |                              | Total / Moyenne                    |                                                                |                    |                                                     |                    |                                                          |                    |                                                                |                                                              |
| Seasons<br>Saisons     |                              | Total / Average<br>Total / Moyenne | 87                                                             | 87                 | 7683                                                | 6987               | 39.013                                                   | 49.456             | 10.443                                                         | 26.78                                                        |

**Table II. Average field trial data of Reshamkeet Oushadh on cocoon yield (Area-wise details : control and treatment maintained with the same sericulturists).**

*Tableau II. Rendement moyen en cocons résultant des expériences sur le terrain avec le Reshamkeet Oushadh. (traités et témoins sont élevés par les mêmes sériciculteurs).*

| Sl. no.<br><i>N° de série</i> | Centre/Area<br><i>Centre ou lieu</i>      | No. of sericulturists'<br>crops tested<br><i>Nombre de récoltes testées</i> | No. of dfls. tested<br><i>Nombre de pontes saines testées</i> |                           | Yield / 100 dfls.<br>(kg)<br><i>Rendement / 100 pontes saines</i> |                           | Improvement<br>in yield (kg)<br><i>Augmentation du rendement (en kg)</i> | % Improvement<br>of yield<br><i>Augmentation du rendement (en %)</i> |
|-------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|                               |                                           |                                                                             | Control<br><i>Témoins</i>                                     | Treated<br><i>Traités</i> | Control<br><i>Témoins</i>                                         | Treated<br><i>Traités</i> |                                                                          |                                                                      |
| 1                             | Bidaraguppe                               | 6                                                                           | 375                                                           | 425                       | 33.575                                                            | 43.000                    | 9.425                                                                    | 28.07                                                                |
| 2                             | K.P. Doddi                                | 35                                                                          | 1550                                                          | 1550                      | 42.105                                                            | 47.379                    | 5.274                                                                    | 12.53                                                                |
| 3                             | Kolar                                     | 10                                                                          | 550                                                           | 550                       | 30.770                                                            | 43.870                    | 13.100                                                                   | 42.57                                                                |
|                               | Total / Average<br><i>Total / Moyenne</i> | 51                                                                          | 2475                                                          | 2525                      | 38.879                                                            | 46.176                    | 7.297                                                                    | 18.77                                                                |

as treatment (6987 dfls.). In the second set, a total of 51 farmers were covered with 2475 dfls. as control and 2525 dfls. as treatment. The rearing was conducted and cocoons were separately harvested in treatment and control batches. Yield was calculated for 100 dfls. and presented in Tables I and II.

## RESULTS AND DISCUSSION

The centrewise data during different seasons on the yield performance in treated and control batches are furnished in Table I. Improvement in yield in Reshamkeet Oushadh treated batches varied during the different seasons and the highest improvement of 13.533 kg/dfls. was recorded during the rainy season followed by summer (9.852 kg/dfls.) and winter (8.93 kg/100 dfls.) High improvement in yield during the rainy season seems most likely to be due to the presence of lime powder as one of the constituents in the formulation which reduces the excessive moisture of the bed and provides suitable microclimatic condition for the late age worms.

In the second set of experimental design half of the dfls. are maintained as "control" and half as "treatment". The yield data with number of sericulturists covered and number of dfls. involved are given in Table II. The yield data clearly indicate an average improvement (18.77 %) of 7.297 kg/100 dfls. over the control.

The above observations clearly suggest that application of Reshamkeet Oushadh helps in considerably improving the cocoon yield in field conditions and also brings out the fact that formulation is effective in checking the silkworm diseases. Hence Reshamkeet Oushadh was recommended to the field in India by Central Silk Board for the benefit of sericulturists. At present this formulation has become a popular product among silkworm growers and has been extensively used in the field. Initially this Institute started manufacturing Reshamkeet Oushadh on a limited scale in order to make it available to sericulturists of different states of India. Within a year, the demand for the product was so high that the Institute was unable to meet the requirement and private manufacturers were given the licences to produce Reshamkeet Oushadh commercially and its marketing.

## REFERENCES

- BAIG M., SASIDHARAN T. O., SHARMA S. D., SEN S.K., JOLLY M. S. (1988), Efficacy of certain bed disinfectants against nuclear polyhedrosis of silkworm, *Bombyx mori* L., Indian J. Seric., 28, 214-218.
- KASIVISWANATHAN K. (1974), Sericulture in Japan, Technical Report Central Silk Board, Bombay, India, 42 p.
- SAMSON M. V., BAIG M., SAPRU M. L., NARASIMHANNA M. N. (1986), Efficacy of certain fungicides and disinfectants for the control of white muscardine disease in mulberry silkworm. Indian J. Seric., 25, 78-83.

## ETUDES PRATIQUES DE L'EFFET DU RESHAMKEET OUSHADH SUR LE RENDEMENT EN COCONS DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

M. BAIG, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S.D. SHARMA, B.D. SINGH,  
T.O. SASIDHARAN & M.K.R. NOAMANI

Central Sericultural Research & Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore  
570 008, Inde.

*Le Reshamkeet Oushadh a été expérimenté de manière intensive dans des exploitations agricoles afin d'en observer les effets sur la production de cocons du ver à soie. L'expérience se fait en deux temps : a) lots témoins et lots traités sont maintenus dans des fermes différentes, b) lots témoins et lots traités sont conservés dans la même exploitation. La première série d'essais concerne 174 récoltes et on peut observer une nette augmentation d'en moyenne 10,443 kg pour 100 pontes saines par rapport au témoin. La deuxième série d'essais porte sur 51 récoltes et le traitement a permis d'obtenir 7,297 kg de cocons avec une amélioration de 18,77 % du rendement par rapport au témoin. Ces résultats montrent que ce produit augmente de manière très efficace la production de cocons dans des conditions naturelles.*

### INTRODUCTION

La muscardine et la grasserie sont les maladies les plus répandues du ver à soie *Bombyx mori* L., elles sont respectivement provoquées par un champignon et un virus. L'efficacité de certains fongicides, à savoir le Captan, le Dithane M45 et d'autres désinfectants dans la lutte contre la muscardine blanche a été étudiée par Samson et coll. (1986).

Au Japon, on a proposé de lutter contre la muscardine par application de certains mélanges fongicides, comme le kinuban, le kabinoran, le pafusol, la poudre de shinshi, le sosan, le chemichlon, etc. (Kasiviswanathan, 1974). Baig et coll. (1988) ont utilisé un certain nombre de désinfectants de litières et leurs combinaisons possibles contre la polyédrose nucléaire du ver à soie. Cependant, il n'existe pas de produit unique qui permette de lutter à la fois contre la muscardine et la polyédrose nucléaire. Dans la présente étude, on a testé un produit mis au point par le Central Silk Board (Inde) et dénommé "Reshamkeet Oushadh", dont la formule se compose de captan, de paraformaldéhyde, d'acide benzoïque et de chaux (1 : 1 : 2 : 96), chez des sériciculteurs des villages du Karnataka afin de déterminer son efficacité sur le rendement en cocons.

### MATERIELS ET METHODES

L'étude a été divisée en deux séries d'expériences. Pour la première série, le test est réalisé en conservant témoins et lots traités dans des élevages séricicoles différents où les conditions d'élevage sont à peu près similaires. Cette expérience s'étend sur trois saisons, à savoir : automne, hiver et saison pluvieuse. Pour la deuxième série, les lots traités et les témoins sont conservés dans la même exploitation séricicole dans laquelle 50 % de l'élevage sont traités avec du Reshamkeet Oushadh et 50 % servent de lot témoin non traité. Dans les lots traités, l'application de Reshamkeet Oushadh se fait au moyen d'un tissu de mousseline fin une demi-heure avant la reprise du nourrissage après chaque mue. On procède également à une application supplémentaire au quatrième jour du cinquième âge

après avoir nettoyé à fond la litière. La quantité totale nécessaire pour 100 pontes saines est de 3,26 kg. La première série d'expériences porte sur un total de 174 exploitations séricicoles dont 87 constituent les témoins (7 683 pontes saines) et 87 constituent le lot traité (6 987 pontes saines). Dans la seconde série d'expériences, 51 fermiers sont concernés avec 2 475 pontes saines comme témoin et 2 525 pontes comme lot traité. L'élevage est conduit normalement puis les cocons sont récoltés séparément en lots traités et en lots témoins. Le rendement, calculé pour 100 pontes saines, est présenté dans les tableaux I et II.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats, donnés par région et par saison, sur la performance du rendement dans les lots traités et les lots témoins sont indiqués au tableau I. L'amélioration du rendement des lots traités avec le Reshamkeet Oushadh varie suivant les saisons et l'amélioration la plus marquée est obtenue en saison pluvieuse avec 13,533 kg pour 100 pontes saines, suivie de l'été (9,852 kg pour 100 pontes saines) et l'hiver (8,93 kg pour 100 pontes saines). Il semble que la forte amélioration du rendement au cours de la saison pluvieuse soit principalement due à la présence de poudre de chaux dans le produit, ce qui permet de réduire l'humidité superflue de la litière et de fournir des conditions microclimatiques favorables aux vers du dernier âge.

Dans la deuxième série d'expériences, la moitié des pontes saines sert de témoin et l'autre moitié est traitée. Les données relatives au rendement, comportant le nombre d'exploitations agricoles couvertes et le nombre de pontes concernées, sont présentées dans le tableau II. Les résultats montrent clairement une amélioration moyenne du rendement (18,77 %) de 7,297 kg pour 100 pontes saines par rapport au témoin.

Les observations décrites ci-dessus indiquent que l'application de Reshamkeet Oushadh aide considérablement à l'amélioration du rendement en cocon dans des conditions naturelles et fait également ressortir le fait que ce produit permet de lutter efficacement contre les maladies du ver à soie. Le Central Silk Board a donc recommandé aux sériciculteurs indiens d'utiliser le Reshamkeet Oushadh. A l'heure actuelle, ce produit, devenu très recherché, est couramment utilisé par les sériciculteurs.

Initialement, l'institut avait commencé la fabrication de ce produit sur une échelle limitée afin d'en disposer pour les sériciculteurs des différents Etats de l'Inde. En l'espace d'un an, la demande pour ce produit a tellement augmenté que l'institut n'a pu y faire face et des fabricants privés ont pu obtenir une licence pour produire le Reshamkeet Oushadh en quantités industrielles et pour le commercialiser.

## **BIBLIOGRAPHIE**

## **BIBLIOGRAPHY**

### **INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES**

### **LANGUAGE SYMBOLS USED**

(Bg) Bulgare / Bulgarian.

(D) Allemand / German.

(F) Français / French.

(K) Coréen / Korean.

(Pt) Portugais / 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.**

## Sériciculture générale

### General sericulture

#### **Silkworm rearing techniques.**

Techniques d'élevage du ver à soie.

AHMAD M. I., PARK K. E.

Pakistan Forest Institute, Peshawar, Pakistan.

*Peshawar (Pakistan). PFI. 12 p. (E)*

#### **Sericulture in rural economic perspective (Bangladesh).**

La sériciculture dans les perspectives économiques rurales au Bangladesh.

AHMED, SADEQUE U.

Bangladesh Sericulture Research & Training Inst., Rajshahi, Bangladesh.

*1988 Bangladesh Resham, Vol. 1, 24-28. (E, Bn)*

#### **Rehabilitating and increasing Guangdong sericultural production by the perfection of silkworm egg production.**

Réhabilitation et augmentation de la production séricicole de Guangdong en perfectionnant la production d'œufs de vers à soie.

Ann.

China Sericulture Society, Guangzhou, Silkworm egg Div. of the Guangdong Branch, China.

*1989 Guangdong Sericultural Newsletter, n1, 11-12. (C)*

#### **Mulberry cultivations for Northeastern agricultural development / Pluk mon phua isan khieo.**

Culture des mûriers pour développer l'agriculture dans le nord-est de la Thaïlande.

Anonyme.

*1988 Irrigation Management, Vol. 20(2), 39-42. (Thai)*

#### **La bachicoltura possibile attività agricola alternativa o integrativa./ Silkworms husbandry as possible alternative or integrative agricultural activity.**

La sériculture une activité agricole de remplacement ou complémentaire.

BASTIANI D. de

Azzociazione Nazionale di Bachicoltura, Via Avogari, 27, 31100 Treviso, Italie.

*1987 Informatore Agrario, Vol. 43(11), 85-86. (I)*

**Il baco da seta come si alleva. / The silkworm. How raising it.**

Comment élever des vers à soie.

BASTIANI D. de

Azzociazione Nazionale di Bachicoltura, Via Avogari, 27, 31100 Treviso, Italie.

1986 *Ramo Edit. degli Agricoltori (REDA), Roma, Sep. 1986, 113 p. (I)*

**Albori serici in "Terra di lavoro"**

L'aube de la soie dans la "Terre du travail".

BOLOGNA L.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale, Vol. XLIII nI, 31-33. (I)*

**The silkworm. Techniques for beginning of a renewed mulberry sericulture. / Il baco da seta.**

**Technique per l'avviamento di una gelsibachicoltura rinnovata.**

Le ver à soie. Techniques pour la mise en place d'une sériciculture modernisée.

CAPPELLOZZA L.

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Florence, Italie.

1988 *Terra e sole, Vol. 43(555), 690-698. 700-704. (I)*

**Promoting Guangdong's sericultural production by technical progress on mulberry tree cultivation.**

Promouvoir la production séricicole à Guangdong en utilisant des techniques modernes de culture de mûriers.

China Sericulture Society, Guangzhou, Guangdong Branch, China.

1989 *Guangdong Sericultural Newsletter, nI, 7-10. (C)*

**Rovereto : magia della seta.**

Rovereto : magie de la soie.

DAPOR G.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale, Vol. XLIII nI, 36-38. (I)*

**Spread of *Hyphantria cunea* Drury in the silkworm rearing areas of China and its control.**

Propagation d'*Hyphantria cunea* Drury dans les régions d'élevage de vers à soie en Chine et méthode de lutte.

GAO D.S.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(2), 104-106. (C)*

**L'industria serica italiana dalla pebrina alla prima guerra mondiale.**

L'industrie séricicole italienne de la pébrine à la première guerre mondiale.

GIOVANNI FEDERICO.

Universita di Pisa, Dipartimento Storia Moderna Contemporanea. Italy.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale, Vol. XLIII nI, 34-35. (I)*

**Impresa e avventura. L'industria del velo di seta a Bologna nel XII secolo.**

Entreprise et aventure. L'industrie du voile de soie à Bologne au 12ème siècle.

GIUSBERTI F.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale, Vol. XLIII nI, 39-40. (I)*

**The silk trade : lucrative profits await exporters with the right types of products.**

Le commerce de la soie : un marché lucratif pour les exportateurs offrant les types d'articles recherchés.

HYVAERINEN A.

*1988 Forum du Commerce International (CCI/CNUCED/GATT). Vol. 24(4), 4-7., 30-33. (F)*

**Silk : a survey of international trends in production and trade.**

La soie : la tendance internationale de la production et du commerce.

International Trade Centre UNCTAD/GATT, Genève, Suisse.

*1989 I.T.C. Genève (Suisse), 55 p. (E)*

**Effect of nutritional quality of mulberry leaf on silkworm rearing in Bangladesh.**

Effet de la qualité nutritive de la feuille de mûrier sur l'élevage des vers à soie au Bangladesh.

KADER M.A.

*1988 Bangladesh Resham, Vol. 1(1), 42. (E, Bn)*

**For further studies on technological development in sericulture.**

Pour poursuivre des études sur le développement technologique en sériciculture.

KAWAKAMI K.

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

*1989 Research Journal of Food & Agriculture, Vol. 12(4), 19-25. (J)*

**Effect of carbon dioxide in soil on the emergence of Rhizoctonia damping-off in Japanese radish.**

**1) Relationship between application of silkworm feces to soil and carbon dioxide concentration in soil.**

Effet du dioxyde de carbone dans le sol sur l'émergence de Rhizoctonia dans les radis japonais.

1) Relation entre l'application d'excréments de ver à soie et la concentration de dioxyde de carbone dans le sol.

MITSUEDA T., MATSUZAKI I.

*1989 Kitanippon Biogaicho Kenkyukaiho, Vol. 40, 59-61. (J)*

**Le dernier pli cacheté de Louis Pasteur à l'Académie des Sciences.**

Pasteur's last sealed envelope to the Academy of Sciences.

MOREAU R.

Univ.Paris XII, UFR Scie. Micro. Biol. Appliquée, Av. du G.de Gaulle, 94010 Créteil Cedex.

*1989 Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Série Générale, Vol.6(5),403-434. (F)*

**Sericulturist's lung disease : Hypersensitivity pneumonitis related to silk production.**

Maladie pulmonaire des sériciculteurs : Hypersensibilité pulmonaire liée à la production de soie.

NAKASAWA T., UMEGAE Y.

*1990 Thorax, Vol. 45, 233. (J)*

**Tree mulberry and extension (in Bangladesh).**

L'extension du mûrier au Bangladesh.

RASHID, ABDUR M.D.

Bangladesh Seric. Research & Training Inst., Rajshahi, Bangladesh.

*1988 Bangladesh resham (Bangladesh) Vol. 1(1), 29-37. (E, Bn)*

**Financial analysis of traditional and improved sericulture (options for Phu Wiang sericulturists) based on the work of Arjen Sterk.**

Analyse financière de la sériciculture traditionnelle et améliorée (option pour les sériciculteurs de Phu Wiang) basée sur le travail d'Arjen Sterk.

STERK A.

*1988 FAO-FO-DP./ FAO Accession NXF9088565. Phu Wiang (Thailand) Dec 1988. 83 p.*

**Sericulture for rural households (Philippines).**

Sériciculture chez les ménages ruraux (Philippines).

TORRETA D.M.

Philippines Univ., Los Banos, College, Laguna Tech. & Livelihood Res. Ctre. Philippines.

*1988 Metro Manila, 30 p. (E)*

**A general account of the development of sericulture in ancient Shaanxi (China).**

Exposé général sur le développement de la sériciculture dans le Shaanxi ancien (Chine).

ZHOU Y.

Northwest Forestry Coll., Yangling, Shaanxi, Dept. of Forestry Economy, China.

*1989 Agricultural History of China, Vol. 3, 67-73. (C)*

## Mûrier

## Mulberry

**Riconoscimento della fibra da gelso "gelsolino".**

Reconnaissance de la fibre de mûrier "gelsolino".

CARRER W.

Stazione Sperimentale per la Seta, Milano.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale*, Vol. XLIII n1, 8.

**Quick *in vitro* production of mulberry (*Morus alba*) plantlets for commercial purposes.**

Production rapide *in vitro* de petits plants de mûriers *Morus alba* à des fins commerciales.

CHATTOPADHYAY S., CHATTOPADHYAY S., DATTA S.K.

1990 *Indian Journal Exp. Biol.*, Vol. 28(6), 522-525. (E)

**Fruit-mulberry resources in Shandong Province.**

Ressources en mûrier à fruits dans la province de Shandong.

FAN K., SONG H., SUN R.

Shandong Provincial Inst. of Sericulture, Yiantan, China.

1988 *Crop Genetic Resource*, Vol. 3, 13-14. (Ch)

**Hyphantria. Biology damages and methods of control./ Ifantria. Biologia danni e metodi di lotta.**

Hyphantria. Dommages biologiques et méthodes de lutte.

FERRARI R., TREVISAN M.

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Florence, Italie.

1988 *Terra e sole*, Vol. 43(551-552), 497-500. (I)

**Studies on peroxidase isoenzyme of some varieties or species in *Morus*.**

Etudes des isozymes de la péroxidase de certaines variétés ou espèces chez *Morus*.

HE D-Y., *et al.*

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

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 129-134. (C, e)

**Perspective of the researches on sericultural science and biological functions of insects.**

Perspectives des recherches sur la sériciculture et les fonctions biologiques des insectes.

HORIE Y.

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

1989 *Research Journal of Food & Agriculture*, Vol. 12(4), 3-5. (J)

**Regeneration of mulberry plantlets through tissue culture.**

Régénération de pousses de mûriers par culture de tissus.

HO-RAK KIM, KAMLESH R., PATEL, THORPE T. A..

Plant Physiology Research Group, Dept. of Biol., Univ of Calgary, Alberta, Canada T2N 1N4.

1985 *Bot. Gaz.*, Vol. 146(3), 335-340. (E)

**Development of a binder-type mulberry harvester.**

Développement d'une moissonneuse-lieuse pour mûriers.

ICHIKAWA A., NAOI T.

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 27-34. (J)

**Pectic substances from mulberry.**

Substances pectiques provenant des mûriers.

KASYMALIEVA K.K., KHIDOYATOV A.A., ASHUBAEVA Z.D.

1989 *Khim. Priro. Soedin.*, Vol. 6, 773-775. (R)

**Detection of microsporidians in adults of the cabbageworm *Pieris rapae crucivara* collected from mulberry fields.**

Détections de microsporidiens chez les vers adultes *Pieris rapae crucivara* recueillis dans des champs de mûriers.

KAWARABATA T., HAYASAKA S., ICHIDA M., SEGAWA H., TERAMINE T. *et al.*

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 288-292. (J)

**On gamma-aminobutyric acid contained in mulberry leaves.**

A propos de l'acide gamma-aminobutyrique contenu dans les feuilles de mûriers.

MACHII H.

1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 381-382. (J)

**Costituzione di gelseti specializzati utilizzando gelsi riprodotti per talea/ Planting of specialized grove using sets mulberry trees.**

Plantation de mûriers spécialisés à l'aide de mûriers reproduits par bouturage.

MENEGHINI A., CAPPELLOZZA L., MIOTTO F.

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Florence, Italie.

1986 *Informatore Agrario*, Vol. 42(40), 41-43. (I)

**Production and partitioning of dry matter in mulberry tree with different conditions of planting density, variety, harvesting methods and tree age.**

Production et répartition de la matière sèche chez le mûrier en fonction de la densité de plantation, de la variété, de la méthode de récolte et de l'âge de l'arbre.

OKABE T., SHIOKAWA H., ONO M.

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

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 1, 59-69. (J, e)

**Effect of in vitro colchicine-treatment on culture of isolated buds in mulberry.**

Effet du traitement à la colchicine sur la culture in vitro des bourgeons isolés de mûriers.

OSHIGANE K., ZHUANG D.

Fac. of Textile Sci. & Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 187-195. (J, e)

**A survey on the incidence of powdery mildew disease of mulberry by *Phyllactinia corylea*.**  
 Un panorama de l'incidence de la maladie de la rouille induite par *Phyllactinia corylea* chez le mûrier.  
 PASHA M.K., BARMAN A.C.  
 Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.  
 1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 30-34. (E)

**Evaluation of soil fertility status of Bholabat for mulberry cultivation.**  
 Evaluation de la fertilité des sols de Bholabat pour la culture de mûriers.  
 QUADER M.A., AHMED S.U.  
 Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.  
 1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 80-82. (E)

**Effects of NPK fertilizers in combination with foliar spray of urea on leaf yield and nutritional composition of mulberry.**  
 Effets des fertilisants NPK combinés avec une brumisation foliaire d'urée sur le rendement en feuilles et la composition nutritive des mûriers.  
 QUADER M.A., QUIYYUM M.A., SARKER A.A., RAB M.A.  
 Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.  
 1990 *Bull. Sericult. Res.* Vol. 1, 1-5. (E)

***In vitro* propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through nodal segments.**  
 Propagation de mûriers *Morus alba* L. *in vitro* par les segments nœuds.  
 SHARMA K.K., THORPE T.A.  
 Plant physiology Research Group, Dept. of Biol. Sciences, Univ. of Calgary, Alb. T2N 1N4.  
 1990 *Scientia Horticulturae*, Vol. 42, 307-320. (E)

**Growth of each organ in mulberry tree under different harvesting methods and tree ages.**  
 Croissance de chacun des organes du mûrier en fonction des différentes méthodes de plantations et de l'âge des arbres.  
 SHIOKAWA H., ONO M., OKABE T., ITO D., TAKABAYASHI K.  
 1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 35-46. (J)

**The counter transport of heavy metals ion through cellulose acetate (CA) plastisizer membrane made from mulberry xylem.**  
 Transport à contre-courant d'ions de métaux lourds à travers une membrane plastifiante d'acétate de cellulose (CA) faite à partir du xylème du mûrier.  
 URITA S., SUGIURA M., SAKAI T.  
 Fukushima Seric. Experiment Station Yanagawamachi Date-gun, Fukushima 960-07, Japan.  
 1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 304-310. (J, e)

**Practical technique for cutting of Husang mulberry.**  
 Technique pratique pour la taille des mûriers Husang.  
 XIA A-K., et al.  
 1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 177-179. (C)

**The name list of mulberry diseases and pests in Shanxi Province.**

Liste des maladies et des parasites du mûrier dans la province de Shanxi.

XU Y-X., *et al.*

Changshi Agricultural Training School, Shanxi Province, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 165-172. (C, e)

**Quantitative investigation on nitrogen metabolism in mulberry leaves.**

Analyse quantitative du métabolisme de l'azote chez les feuilles de mûrier.

YAMASHITA T., OHSAWA R.

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.* Vol. 1, 27-44. (J, e)

**Approach the measures adopted in protecting the natural resources of white mulberry and pest control.**

Méthodes adoptées pour protéger les ressources naturelles de mûriers blancs et lutte contre la maladie.

YAN J.

Hebei Forestry College, Shijiazhuang, Dept. of Economic Forestry, China.

1988 *Journal of Hebei Forestry College (China)*, Vol. 3(1), 75-81. (C)

**Studies on endogenous growth regulators in mulberry. Relationship between the growth of auxillary bud and the IAA content in mulberry leaves and branches after pruning.**

Etudes sur les régulateurs de croissance endogènes du mûrier. Relation entre la croissance du bourgeon axillaire et le contenu en AIA des feuilles de mûriers et des branches après la taille.

YANAGISAWA Y., SHIOIRI H.

1990 *J.S.S.J.*, Vol. 59, 83-84. (E)

**Effects of refrigeration period of mulberry calluses on their growth after the storage and pseudo-dormancy induced by the storage.**

Effets de la période de réfrigération des cals de mûriers sur la croissance après stockage et la pseudo-dormance induite par le stockage.

YASUKURA F., OHNISHI T.

Nose High-School, Nose-cho, Osaka 563-01, Japan.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 255-258. (J, e)

**Changes in photosynthetic rate, translocation and accumulation of carbohydrate by girdling of stump in mulberry leaves.**

Variations du taux de photosynthèse, de la translocation et de l'accumulation des hydrates de carbone dans les feuilles de mûrier par incision de branches.

YAZAWA M., SHIRATA A.

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

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 1, 71-79. (J, e)

**B. mori : élevage, nutrition, pathologie**

**B. mori : rearing, feeding, pathology**

**Protoxin from diamond-shaped crystals from *B. thuringiensis* and insecticidal activity against the silkworm, *Bombyx mori*.**

Protoxine issue des cristaux en forme de diamant de *B. thuringiensis* et activité insecticide pour le ver à soie *Bombyx mori*.

ASANO S., IIZUKA T.

1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 40, 375-380. (J, e)

**Outbreak of silkworm (*Bombyx mori* L.) diseases under the influence of different commercial seasons of Bangladesh.**

Manifestation des maladies du ver à soie (*Bombyx mori*) en fonction des diverses saisons au Bangladesh.

BARMAN A.C.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 41-46. (E)

**Inhibition of viral assembly is a possible effect of guanidine hydrochloride action during the multiplication of infectious flacherie virus in the silkworm, *Bombyx mori*.**

L'inhibition de l'assemblage viral est une conséquence possible de l'action du chlorure de guanidine pendant la multiplication du virus de la flacherie infectieuse chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

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

Nagoya University, Chikusa, Nagoya, Japon.

1990 *Journal of invertebrate pathology*, Vol. 55(1), 138-141. (E)

**Progress of applied research on silkworm disease worldwide.**

Progrès de la recherche appliquée sur les maladies du ver à soie.

China Sericulture Society Guangzhou.

Seric. Society Guangzhou, Physiol. Silkworm Disease Div. of the Guangdong Branch. China.

1989 *Guangdong Sericulture Newsletter*, n1, 13-16. (C)

**Ascorbic acid enhances the silk yield of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.**

L'acide ascorbique augmente le rendement en soie du ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L.

EL-KARAKSY I.A., IDRIS M.

Alexandria University, Egypt.

1990 *Journal of Applied Entomol.*, Vol. 109(1), 81-86. (E)

**Experimental report on control silkworm pebrine (*Nosema bombycis*) by disinfecting with sodium hypochlorite.**

Rapport expérimental sur la lutte préventive contre la pébrine du ver à soie (*Nosema bombycis*) en désinfectant avec de l'hypochlorite de sodium.

FANG D., LIAO S., ZHENG X.

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

1989 *Guangdong Agricultural Sciences*, Vol. 6, 42-45. (C)

**Studies on the lesion of silkworm's pebrine (*Bombyx mori* L.) in midgut and the early diagnosis for the disease.**

Etudes sur les lésions causée par la pébrine dans l'intestin moyen du ver à soie (*Bombyx mori* L.) et sur le diagnostic précoce de la maladie.

FANG D., ZHENG X., ZHU D.

Guangdong Provincial Academy of Agricultural Science, Guangzhou, Institute of Seric, China.

1989 *Guangdong Agricultural Sciences*, Vol. 4, 25-28. (Ch)

**Effect of spacing and frequency of feeding on the larval development of silkworm (*Bombyx mori* L.) and on silk yield.**

Effet de l'espacement et de la fréquence du nourrissage sur le développement larvaire du ver à soie *Bombyx mori* L. et sur le rendement en soie.

GILANI S. Q., MANZOOR-UL-HAQ.

Univ. of Agric., Faisalabad, Pakistan, Dept. of Entomology, Pakistan.

1987 *Pakistan Entomologist*, Vol. 6(1-2), 21-24. (E)

**Inhibitory effect of a high temperature on the development of *Nosema bombycis* in the silkworm, *Bombyx mori*.**

Effet inhibiteur de la haute température sur le développement de *Nosema bombycis* chez le ver à soie *Bombyx mori*.

HAYASAKA S.

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 59-65. (J)

**Cloning of a microsporidian, *Nosema bombycis* (Microsporida : Nosematidae) in insect cell cultures by a limiting dilution method.**

Clonage d'un microsporidien, *Nosema bombycis* (Microsporida Nosematidae) dans les cultures de cellules d'insectes par une méthode de dilution limitante.

HAYASAKA S., KAWARABATA T.

National Institute of Sericultural & Entomol. Sci., Tsukuba, Ibaraki, Japon.

1990 *Journal of invertebrate pathol.*, Vol. 55(1), 35-40. (E)

**Gustatory and feeding responses to amino acid in the silkworm, *Bombyx mori*.**

Réactions gustatives et alimentaires aux acides aminés chez le ver à soie *Bombyx mori*.

HIRAO T., ARAI N.

1990 *Nippon Oyo Dobutsu Konchu Gakkaishi*, Vol. 34(1), 73-76. (J)

**Breeding of "Eunbaekjam" a new high silk-yielding silkworm variety for Summer-autumn rearing.**

Elevage de "Eunbaekjam" une nouvelle variété de ver à soie à rendement en soie élevé pour l'élevage d'été-automne.

HONG K.W., SOHN K.W., RYU K.S., KIM K.M., LEE S.P., CHOI S.R., *et al.*

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.

1988 *The Research Reports of the Rural Development Administ.*, Vol. 30(3), 119-124.(K)

**"Grasserie" and "Pebrine" : two historically notorious diseases of the silkworm (*Bombyx mori* L.) again disastrous." Grasserie und Pebrine: zwei wieder akut auftretende, historisch belegte krankheiten des seidenspinners (*Bombyx mori* L).**

La grasserie et la pébrine : deux maladies bien connues du ver à soie *Bombyx mori* causant à nouveau des ravages.

HUGER A. M.

Biologische Bundesanstalt fuer Land- & Forstwirtschaft. Darmstadt, Inst. fuer Biol. Germany

1990 *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, Vol. 42(3), 39-41. (D)

**Enhancement of the *in vitro* infectivity of a nuclear polyhedrosis virus by a factor in the capsule of a granulosus virus.**

Augmentation de l'infectiosité *in vitro* du virus de la polyédrose nucléaire par un facteur de la capside d'un virus de la granulose.

HUKUHARA T., ZHU Y.

Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo, Japan.

1989 *Journal of Invertebrate pathology*, Vol. 54(1), 71-78. (E)

**Intracellular germination of spores of a *Nosema* sp. immediately after their formation in cultured cell.**

Germination intra-cellulaire des spores de *Nosema* sp. immédiatement après leur formation dans la cellule en culture.

IWANO H., ISHIHARA R.

Nihon University, Fujisawa, Japan

1989 *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 54(1), 125-127. (E)

**Green cocoon and copper sulphate (Bangladesh).**

Cocon vert et sulfate de cuivre.

KABIR.

1988 *Bangladesh Resham (Bangladesh)*, Vol. 1(1), 45. (E, B)

**Incidence of innerside stained (silkworm) cocoon and simple disinfection method to the rotatory cocooning frame.**

Incidence des cocons de ver à soie à couche interne colorée et méthode simple de désinfection des encabanages rotatifs.

KANEMATSU A., KURASHIMA H., MIYAJIMA S.

Aichi-ken Agricultural Research Center, Nagakute, Japan.

1987 *Research Bull. of the Aichi-ken Agric. Research Center*, n19, 341-343. (J)

**A study of a possibility for a reduced frequency rate of feeding on rearing silk worms in the last age period.**

Etude d'une possibilité de réduction de la fréquence de nourrissage pour l'élevage des vers à soie au dernier âge.

KARAIVANOV S.

1990 *Animal Science*, Vol. 27(7), 119. (B)

**Effect of some varieties of mulberry on the development of *Bombyx mori* L. and cocoon quality.**

Effet de certaines variétés de mûriers sur le développement de *Bombyx mori* L. et la qualité du cocon.

KARIMULLAH JAMAL Q., AHMAD M. I., ASHIQ M. N., SHAH M. F.

NWFP Agricultural Univ., Peshawar, Dept. of Entomology, Pakistan Forest Inst., Pakistan.

1989 *Sarhad Journal of Agriculture, Pakistan*, Vol. 5(5), 489-492. (E)

**Inhibition of the accumulation of viral polypeptide, in the densovirus-infected midgut of the silkworm, *Bombyx mori*, reared at supraoptimal temperature.**

Inhibition de l'accumulation d'un polypeptide viral dans l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori* infecté par le virus de la densovérose, élevé à une température supraoptimale.

KOBAYASHI M., CHOI H.

1990 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 56, 117. (J)

**Effective rearing methods for polyphagous silkworm strains in fourth instar larvae by using low cost artificial diet.**

Méthodes d'élevage des larves du quatrième âge des souches de vers à soie polyphages avec un aliment artificiel de faible coût.

KUBOTA T., OHTSUKA T., YANAGAWA H.

1990 *The Journal of Seric. Science Japan*, Vol. 59(5), 336-340. (E)

**Studies on the food utilization efficiency in the silkworm, *Bombyx mori* L., reared on mulberry leaves.**

Etudes sur l'efficacité de l'utilisation de la nourriture chez le ver à soie *Bombyx mori* élevé sur des feuilles de mûriers.

KURIBAYASHI S., SUDA Y., KOUSAKA T.

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

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 1, 81-102. (J, e)

**Microbial insecticide of *Bacillus thuringiensis* and sericulture.1: comparative toxicities of *Bacillus thuringiensis* subspecies to silkworm larvae, *Bombyx mori* L., and insecticidal activity persistence of parasporal crystal in mulberry field.**

Insecticide microbien de *Bacillus thuringiensis* et sériciculture. 1: toxicités comparées des sous espèces de *Bacillus thuringiensis* sur les larves de *Bombyx mori* L. et persistance de l'activité insecticide des cristaux dans les mûraies.

LEE Y.K., KANG S.K.

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.

1989 *The Research Reports of the Rural Develop. Administ.*, Vol. 31(2), 24-28. (Ko)

**Resistance of varieties of the silkworm, *Bombyx mori* L., to the white muscardine (*Beauveria* sp.).**  
Résistance de certaines variétés de ver à soie *Bombyx mori* L. à la muscardine blanche (*Beauveria* sp.).  
LEE Y.K., LEE J.C., HAN M.S.

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.  
1989 *The Research Reports of the Rural Develop. Administ.*, Vol. 31(2), 7-12. (Ko)

**Time action : study on time action of intestinal mucosa of the silk worm larvae (*Bombyx mori*) on their feed and thus on chloroplasts.**

Action du temps : action de la muqueuse intestinale des larves de vers à soie (*Bombyx mori*) sur leur alimentation et donc sur leur chloroplast.

LIMAYE P.A., HUDDAR P.H.

Poona School of Sciences, 339, Sadashiv (Navi) Peth, Pune-411030, India.

1990 *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 2(2), 221-222. (E)

**Differentiation of silkworm sex by means of cocoon fluorescences.**

Différenciation du sexe du ver à soie à l'aide de la fluorescence des cocons.

LIU J-Q., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 180-182. (C)

**Observation on the biological characters of *Dermestes vulpinus* Fab. and the effects of temperature and humidity on their development.**

Observation sur les caractères biologiques de *Dermestes vulpinus* Fab. et des effets de la température et de l'humidité sur son développement.

LUO Y., LI Y.

Yunnan Agricultural Univ., Kunming, Dept. of Plant Protection, China.

1988 *Journal of Yunnan Agricultural University*, Vol. 3(2), 209-212. (C)

**New bed-cleaning methods in the silkworm rearing on an artificial diet.**

Nouvelles méthodes de nettoyage des claies dans les élevages de vers à soie élevés sur aliment artificiel.

MATSURA Y., TSUNODA F.

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 75-81. (J)

**Induction of a hemagglutinating activity in the hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with cytoplasmic polyhedrosis virus.**

Induction de l'hémagglutination dans l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori* infecté par le virus de la polyédrose cytoplasmique.

MORI H., OHYANE M., ITO M., IWAMOTO S., MATSUMOTO T., SUMIDA M. et al.

Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto, Japan.

1989 *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol.54(1), 112-116. (E)

**Studies on the production method of the silkworm cocoon for new use. 1 : Effects of supplied leaves on the size of cocoon filament.**

Etudes des méthodes de production de cocons de ver à soie pour de nouvelles utilisations. 1 : Effets des feuilles de mûrier fournies sur la taille du filament du cocon.

NAITO H., KURASHIMA H., KANEMATSU A.

Aichi-Ken Agricultural Research Center, Nagakute, Japan.

1987 *Research Bull. of the Aichi-ken Agric. Research Center*, n 19, p. 336-340. (J)

**The effect of invertebrate protein supplements on the growth, viability and productivity of silkworm.**

Effet de la supplémentation en protéines d'invertébrés sur la croissance, la viabilité et la productivité du ver à soie.

NIKITIN S.A., KHALMATOV I.K.

1988 *Novosibirsk (USSR - 1988)* 71-76. (R)

**Studies on the susceptibility of silkworm races to pebrine spore, *Nosema bombycis* Naegli.**

Etudes sur la sensibilité des races de vers à soie aux spores de pébrine *Nosema bombycis* Naegli.

PATIL C.S., GEETHA BAI M.

Karnataka state Sericulture Development Institute, Bangalore, India.

1989 *Journal of Applied Entomology (Germany)*, Vol. 108(4), 421-423. (E)

**Using gamma irradiation to enhanced production in silkworm. / Kan chai rangsi gamma phu a phoem phonphalit lae percent pluak rang khong mai phan Thai.**

Irradiation au rayon gamma pour accroître la production chez le ver à soie.

PRATHIP M., BUNYA S., SUCHADA S.

Department of Agriculture, Sericulture Research Institute, Bangkok, Thailand.

1987 *ASST Newsletter*, Vol. 20(6), 425-435. (Thai)

**Methods of prevention and control of viral and bacterial diseases in silkworms. / Metode de prevenire si combatere a bolilor virotice si bacteriene la viermii de matase.**

Méthodes de prévention et de lutte contre les maladies bactériennes et virales chez les vers à soie.

SERBANESCU S., PAU E.

1989 *Lucrarile Inst. Cercetari Vet. si Biopreparate Pasteur*, Vol.18, 147-154. (R)

**Effect of feeding of *Cercospora* infected leaves of mulberry on silkworm development.**

Effet du nourrissage avec des feuilles de mûrier infestées par *Cercospora* sur le développement des vers à soie.

SIDDARAMAIAH A. L., HEGDE R. K.

Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Dharwad-580 005, India.

1988 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 22(4), 498-504. (E)

**Effect of an antibiotic on the larval growth and egg productivity in parent silkworms for hybridization reared on an artificial diet.**

Effet d'un antibiotique sur la croissance larvaire et la productivité d'oeufs chez les souches parentales de vers à soie élevées sur aliment artificiel utilisées pour la production d'hybrides.

TAKIZAWA H.

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 67-74. (J, e)

**Sanitary effect against silkworm pathogens by the new chemical 881.**

Effet du nouveau produit chimique 881 contre les pathogènes du ver à soie.

WANG J., FU F., XIAO N.

Shaanxi Provin Acad.of Agric. Sci., Zhouzhi, Shaanxi, Inst. of Silkworm & mulberry, China.

1989 *Shaanxi Journal of Agricultural Science*, Vol. 5, 17-19. (Ch)

**Studies on the effect of the control of *Meloidogyne incognita* with phenamiphos on silkworms.**

Etudes de l'effet de la lutte contre *Meloidogyne incognita* avec phenamiphos sur les vers à soie.

WEI M., GU J.

Pujiang County Bureau of Agriculture, Zhejiang, China.

1989 *Journal of Agricultural Chemicals*, Vol. 2, 47. (C)

**A few wild weeds and disinfectants as repellent to silkworm, *Bombyx mori* L. for natural mounting.**

Quelques herbes sauvages et désinfectants agissent comme repoussoir pour la montée naturelle des vers à soie *Bombyx mori*.

YONG S.Y., LEE S.U., LEE J.H., KIM D.I., JEONG H.J.

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.

1989 *The Research Report of the Rural Develop. Administ.*, Vol. 31(2), 18-23. (Ko)

**Morphogenesis of cytoplasmic polyhedrosis virus of *Bombyx mori* in vivo and cytopathological changes.**

Morphogénèse du virus de la polyédrose cytoplasmique de *Bombyx mori* in vivo et changements cytopathologiques.

ZHANG J-H., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 140-144. (C, e)

**Kejiang-1 and Kelusu-new chemical agents for disinfection of silkworm diseases.**

Kejiang-1 and Kelusu nouveaux agents chimiques pour lutter contre les maladies des vers à soie.

ZHOU C-Q., et al.

The Sericultural Research Institute of Shandong Province, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 135-139. (C, e)

## Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie

## Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

### Studies on egg production in Japanese Oak silkworm.

Etudes sur la production d'oeufs chez le ver à soie du chêne japonais.

CHEN L.-Z., *et al.*

The Sericultural Research Institute of Heilongjiang Province, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 149-151. (C, e)

### The effect of X-ray on indian silkworm of *Philosamia*.

Effet des rayons-X sur le ver à soie indien *Philosamia*.

HU K.

Kunming Branch of Academia Sinica, Yunnan, Lab of Ecology, China.

1988 *Acta Ecologica Sinica*, Vol. 8(1), 27-34. (C)

### Morphogenesis of the antenna of the male silkworm, *Antheraea polyphemus*. 1. The leaf shaped antenna of the pupa from diapause to apolysis.

Morphogénèse de l'antenne du papillon mâle d'*Antheraea polyphemus*. 1. Antenne en forme de feuille chez la nymphe à partir de la diapause jusqu'à l'apolyse.

KEIL T.A., STEINER C.

1990 *Tissue & Cell*, Vol. 22, 319. (E)

### Regulation of cytochrome P-450 dependent steroid hydroxylase activity in *Manduca sexta* : evidence for the involvement of a neuroendocrine-endocrine axis during larval-pupal development.

Régulation de l'activité stéroïde-oxydase dépendante du cytochrome P-450 chez *Manduca sexta* : preuve de l'existence d'un axe neuroendocrine-endocrine pendant le développement larvo-nymphal.

KEOGH D.P., JOHNSON R.F., SMITH S.L.

Bowling Green State University, Bowling Green, OH, USA.

1989 *Biochemical & Biophysical Research communications*, Vol. 165(1), 442-448. (E)

### On the major characteristics of the silkworm, *Antheraea yamamai* reared indoors.

Sur les caractéristiques principales du papillon, *Antheraea yamamai* élevé à l'intérieur.

KIM S.E., LEE S.M., YOON H.J., PARK N.S., LEE Y.D.

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Korea.

1989 *The Research Report of the Rural Develop. Administ.*, Vol. 31(2), 1-6. (Ko)

**Serological diagnosis of pebrine in oak silkworms.**

Diagnostic sérologique de la pébrine chez le ver du chêne.

LI J.

Shenyang Agricultural University, China.

1989 *Journal of Shenyang Agricultural University*, Vol. 19(1), 38-42. (C)

**Living habits and elimination of *Hyla arborea immaculata* Boettger in Oak silkworm rearing.**

Comportement et élimination de *Hyla arborea immaculata* Boettger dans les élevages du ver à soie du chêne.

LIU X-J., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 183-184. (C)

**Application of trimolter inducer on oak silkworm.**

Application d'un inducteur trimuant sur le ver à soie du chêne.

LU X-F., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 182-183. (C)

**Influence of insecticides-cytoplasmic polyhedrosis virus combinations on pupal weight and fecundity of tobacco budworm (Lepidoptera : Noctuidae).**

Effet combiné du virus de la polyédrose cytoplasmique et des insecticides sur le poids de la chrysalide et la fécondité du ver du tabac (Lepidoptera : Noctuidae).

MOHAMED A.K., YANG J.R., NELSON F.R.S.

Jackson State University, Jackson, MS.

1989 *Journal of Entom. Sci., USA*, Vol. 24(4), 539-544. (E)

**Storage of diapausing tobacco budworm pupae (Lepidoptera : Noctuidae).**

Stockage de chrysalides diapausantes du ver du tabac (Lepidoptera : Noctuidae).

MULROONEY J.E., PARROTT W.L., DAVIS F.M., JENKINS J.N.

Crop Science Research Laboratory, USDA, ARS, Mississippi State, MS, USA.

1989 *Journal of Economic Entomol., USA*, Vol. 82(5), 1490-1493. (E)

**Comparative biology and quantitative nutrition of *Philosamia ricini* (Drury, 1777, Lepidoptera Saturniidae) on four genotypes of *Ricinus communis* L. / Biologia comparada e nutricao quantitativa de *Philosamia ricini* em quatro genotipos de mamona.**

Biologie et nutrition quantitative comparées chez *Philosamia ricini* (Drury, 1777, Lepidoptera Saturniidae) élevé sur quatre génotypes de *Ricinus communis* L.

NEGREIROS J.

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Sao Paulo, Brésil.

1989 *Piracicaba, S.P. (Brazil)*, 144 p. (P)

**Breeding of "Fangshanhuang"-a new hypersilkgeneous variety of *Antheraea pernyi*.**

Élevage de "Fangshanhuang" une nouvelle variété super productrice de soie chez *Antheraea pernyi*.

PAN C-R., et al.

Fangshan Farm of Oak Silkworm egg Production, Qixia County, Shandong Province, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 152-157. (C, e)

**Descripcion morfologica de los estados preimaginales (puesta, larva, crisalida) de *Thaumetopoea processionea* L. (Lepidoptera Thaumetopoeidae) / Morphological description of the immature stages (egg-mass, larva, pupa) of *Thaumetopoea processionea*.**

Description morphologiques des stades pré-imaginaux (pontes, larve, chrysalide) chez *Thaumetopoea processionea* L. (Lepidoptera Thaumetopoeidae).

PASCUAL J.A.

1988 *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas, (Spain), Vol. 14(2), 249-263. (E)*

**Biología de la Proccionaria del roble (*Thaumetopoea processionea* L.) (Lepidoptera Thaumetopoeidae) en el centro-oeste de la península Iberica / Biology of *Thaumetopoea processionea* L. in the Center-western of Iberian peninsula.**

Biologie de la processionnaire du chêne *Thaumetopoea processionea* L. (Lepidoptera Thaumetopoeidae) dans le centre ouest de la péninsule ibérique.

PASCUAL J.A.

1988 *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas, (Spain), Vol. 14(3), 383-404. (S)*

**Relationship between silk gland weight of 5th instar oak silkworm and oak leaf quality.**

Relation entre le poids de la glande séricigène du ver à soie du chêne au 5ème âge et la qualité de la feuille de chêne.

WANG S-G., et al.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(2), 120-122. (C)*

**Development of Oak silkworm raising in Liaoning Province.**

Développement de l'élevage du ver à soie du chêne dans la province de Liaoning.

WU Z-S.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(3), 173-176. (C)*

## Vers à soie : génétique

## Silkworms : genetics

**Selection of less susceptible multivoltine F1 hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L. to nuclear polyhedrosis virus.**

Sélection d'hybrides F1 polyvoltins du ver à soie *Bombyx mori* L. moins sensibles au virus de la polyédrose nucléaire.

BARMAN A.C., PASA K., NAHAR A., QUAYUM A.

Bangladesh Sericulture Research & Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

1990 *Bull. Sericult. Res.*, Vol. 1, 17-29. (E)

**The 5S rRNA nucleotide sequence of a silkworm hybrid.**

La séquence nucléotidique de l'ARNr 5S d'un ver à soie hybride.

CAO G., FENG X., QI G.

Academia Sinica Shanghai, Shanghai Inst. of Biochemistry, China.

1988 *Acta Entomologica Sinica*, Vol. 31(2), 117-122. (Ch, e)

**The quantitative character of the parental stock and the F1 hybrid as well as its heterosis.**

Caractères quantitatifs des parents et de l'hybride F1 ainsi que leur hétérosis.

LIN J., ZHONG S.

South China Agricultural Univ., Guangzhou Dept. of Sericulture, China.

1988 *Journal of South China Agricultural University*, Vol.9(4), 63-70. (C, e)

**Gene action and structure of egg shell in the Kei's grey eggs strain of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Action des gènes et structure de la coque des oeufs chez la souche Kei à oeufs gris du ver à soie *Bombyx mori*.

LU C., et al.

Department of Sericulture, Southwest China Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 80-84. (C, e)

**Application of trimolter inducer on silkworm egg production. II. Induction of trimolting silkworms for hybrid parents and propagation of their offsprings.**

Application d'un inducteur trimuant à la production d'oeufs de vers à soie. II. Induction de vers à soie trimuants pour obtenir des parents hybrides et propagation aux générations suivantes.

LU X. F., et al.

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

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 65-70. (C, e)

**Developmental genetics of E-pseudoallelic domain in *Bombyx*. 1. Genetic characteristics.**

Génétique de développement du domaine pseudoallélique-E chez *Bombyx mori*. 1. Caractéristiques génétiques.

MURAKAMI A.

1989 *National Institute of Genetics Japan*, N40, 59-60. (E)

**Developmental genetics of E-pseudoallelic domain in *Bombyx*. 2. Developmental characteristics.**

Génétique de développement du domaine pseudoallélique-E chez *Bombyx*. 2. Caractéristiques de développement.

MURAKAMI A.

1989 *National Institute of Genetics Japan*, N40, 60-62. (E)

**The identification of polyploidy using hemocyte of the silkworm larvae.**

Mise en évidence de la polyploidie en utilisant les hémocytes des larves de ver à soie.

NAKAGAKI M., TAKEI R., NAGASHIMA E.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 225-227. (J)

**Linkage studies of the fibroin heavy chain gene in, *Bombyx mori*.**

Etudes de liaison du gène de la chaîne lourde de la fibroïne chez *Bombyx mori*.

NAKAYAMA M., DOIRA H., WATANABE T.

Korean Women's Junior Coll., Fukuoka, Japan.

1987 *Sci. Bull. of the Faculty of Agric., Kyushu Univ.*, Vol. 42(1), 27-35, (J, e)

**Estimation of combining ability by dialleled crosses in the sex-limited yellow cocoon strains of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Estimation de la capacité combinatoire à l'aide des croisements dialléliques chez les souches à cocon jaune liées au sexe du ver à soie *Bombyx mori*.

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

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 1-26. (J)

**Radiation induced mutation in the silkworm oogonia at the pe and re loci.**

Mutation induite aux loci "pe" et "re" par irradiation des oogonies chez le ver à soie.

REYES R.C., UMALY R.C.

Philippines Univ., Los Banos, College, Laguna, Inst. of Biological Sciences, Philippines.

1986 *Natural and Applied Science Bull. (Philippines)*, Vol. 38(1), 65-71. (E)

**Analysis of sex chromosome pairings in tetraploid females of the silkworm by using the sex-linked recessive gene.**

Analyse de l'appariement des chromosomes sexuels chez les femelles tétraploïdes du ver à soie à l'aide d'un gène récessif lié au sexe.

SAHARA K., KAWAMURA N., IIZUKA T.

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 196-201. (J, e)

**Effect of environmental factors on the egg size determining gene, Esd, as revealed by ovary transplantation in the silkworm, *Bombyx mori*.**

Effet des facteurs d'environnement sur le gène déterminant la taille de l'oeuf, Esd, déterminé par transplantation de l'ovaire chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SAHARA K., KAWAMURA N., IIZUKA T.

Lab. of Sericology, Fac of Agric, Hokkaido Univ, Sapporo, 060 Japan.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 293-303. (E)

**Breeding of a new silkworm variety "Fangshan" x "Xing Ming" for Autumn rearing.**

Elevage d'une nouvelle variété de vers à soie "Fangshan" x "Xing Ming" pour l'élevage d'automne.

SHAO Y-H. *et al.*

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 74-79. (C, e)

**Comparative experiment on silkworm varieties Yuncan 1 and Yuncan 2 with current popularizing varieties.**

Expérience comparative sur les variétés Yuncan 1 et Yuncan 2 de vers à soie avec des variétés courantes.

SHEN Z.

Yunnan Provincial Acad. of Agric. Scie., Kunming, Inst. of Silkworm & Mulberry, China.

1989 *Yunnan Agric. Scie. and Technology*, Vol. 3, 33-34. (C)

**Diapause of the inter-specific F1 hybrids between *Antheraea yamamai* (Guerin-Meneville) and *A. pernyi* (G. M.) (*Lepidoptera* : *Saturniidae*).**

Diapause des hybrides F1 inter-spécifiques entre *Antheraea yamamai* (Guerin-Meneville) et *A. pernyi* (G. M.) (*Lepidoptera* : *Saturniidae*).

SHIMADA T., YAMAUCHI H., KOBAYASHI M.

Tokyo Univ., Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, Vol. 32(2), 120-125. (J)

**Characteristics of silkworm E gene and analysis of homeobox gene.**

Caractéristiques du gène E du ver à soie et analyse du gène homéotique.

UENO K., HARA W., HUI C., SUZUKI Y.

1990 *Jikken Igaku*, Vol. 28(6), 594-598. (J)

## Vers à soie : physiologie, biochimie

## Silkworms : physiology, biochemistry

### **Purification of the prophenoloxidase from *Hyalophora cecropia* and four proteins involved in its activation.**

Purification de la prophénoloxydase de *Hyalophora cecropia* et de quatre protéines impliquées dans son activation.

ANDERSSON K., SUN S.C., BOMAN H.G., STEINER H.

University of Stockholm, Stockholm, Sweden.

1989 *Insect Biochemistry*, Vol. 19(7), 629-637. (E)

### **Sex pheromone biosynthesis from 14C-hexadecanoic acid in the silkworm moth.**

Biosynthèse de phéromone sexuelle à partir de l'acide 14C-hexadécanoïque chez le papillon du ver à soie.

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

Tokyo Univ., Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Agricultural and Biological Chemistry*, Vol. 52(1), 141-147. (E)

### **Development of a silkworm shaker-gatherer.**

Développement d'un broyeur à vers à soie.

CHOE K.J., PARK P.K., OH S.G., CHO N.H., LEE S.U.

Rural Development Administration, Suwon Agricultural Mechanization Institute, Korea.

1988 *The Research reports of the Rural Development Administ.*, Vol. 30(3), 83-90. (K)

### **Genes differentially expressed during pupal-adult neurogenesis in *Manduca sexta*.**

Gènes exprimés de manière différentielle pendant la neurogénèse nympho-adulte chez *Manduca sexta*.

DAVIS M.T.B., SVOBODA J.A.,

U.S.D.A Insect Hormone Laboratory, Beltsville, MD.

1989 *Insect Biochemistry*, Vol. 19(5), 517-522. (E)

### **NAD+Kinase in the development of a silkworm, *Bombyx mori*.**

Kinase à NAD+ au cours du développement du ver à soie *Bombyx mori*.

FILIPPOVICH S.Y., AFANASIEVA T.P., KRITSKY M.S.

A.N. Bach Inst. of Biochemistry, USSR Academy of Sciences, Moscow 117071, URSS

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(2), 99-104. (E)

**Establishment and characterization of substrate-depending cell lines of *Bombyx mori*.**

Etablissement et caractérisation de lignées cellulaires de *Bombyx mori*.

INOUE H., TANIAI K., KOBAYASHI J.

National Inst. of Sericultural & Entomological Sci., Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 1, 13-25. (J, e)

**Cloning of a gene encoding bombyxin, an insulin-like brain secretory peptide of the silkworm *Bombyx mori* with prothoracicotropic activity.**

Clonage d'un gène codant la bombyxine, un peptide analogue à l'insuline sécrété par le cerveau chez le papillon *Bombyx mori* ayant une activité prothoracicotrope.

IWAMI M., KAWAKAMI A., ISHIZAKI H., TAKAHASHI S., SUZUKI Y., et al.

Biological Institute, Faculty of Science, Nagoya University, Nagoya 464-01 Japan.

1989 *Develop. Growth & Differ.*, Vol. 31(1), 31-37. (E)

**A novel family C of the genes that encode bombyxin, an insulin related brain secretory peptide of the silkworm *Bombyx mori*: isolation and characterization of gene C-1.**

Une nouvelle famille C de gènes codant pour la bombyxine, un peptide de type insuline sécrété par le cerveau du papillon *Bombyx mori*: isolement et caractérisation du gène C-1.

IWAMI M., KAWAKAMI A., SUZUKI Y., NAGASAWA H., SUZUKI A., ISHIZAKI H.

Department of Biol., School of Science, Nagoya Univ., Nagoya 464-01, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(3), 295-303. (E)

**Changes in the body temperature of a silkworm, *Bombyx mori*, exposed to low temperature.**

Variations de la température du corps du ver à soie *Bombyx mori* exposé à basse température.

KANKE E.

Utsunomiya University, College of Agric, Japan.

1988 *Bull. of the Coll. of Agric. Jpn.*, Vol. 13(3), 45-51. (J)

**Appearance of chitinolytic enzymes in integument of *Bombyx mori* during the larval-pupal transformations. Evidence for zymogenic forms.**

Apparition d'enzymes chitinolytiques dans le tégument de *Bombyx mori* au cours des transformations larvo-nymphales. Mise en évidence de formes zymogènes.

KOGA D., FUJIMOTO H., FUNAKOSHI T., UTSUMI T., IDE A.

Faculty of Biochemistry, Fac. of Agric, Yamaguchi University, Yamaguchi 753, Japan.

1989 *Insect Biochem.*, Vol. 19(2), 123-128. (E)

**Developmental changes in the hemolymph concentrations of major plasma proteins in the domestic silkworm and comparing with the other silkworms.**

Modifications au cours du développement des concentrations des protéines majeures de l'hémolymphe chez le ver à soie domestique et comparaison avec d'autres vers à soie.

LI F., HUANG J.

1989 *Canye Kexue*, Vol. 15(3), 139-143. (C)

**Response of silkworm heart in the presence of some insecticides.**

Réaction cardiaque du ver à soie en présence de certains insecticides.

MADHUKAR V., SRINIVAS P., RAO A. P.

1988 *Indian J. Comp. Anim. Physiol.*, Vol. 6(1), 59-64. (E)

**Expression of human interferon alpha in silkworms with a baculovirus vector.**

Expression d'interféron alpha humain dans les vers à soie à l'aide d'un vecteur baculovirus.

MAEDA S.

Zoecon Res. Inst., Palo alto, C A 94304, USA.

1987 *Biotec. in invert. pathol. & cell culture. Acad. Press. San diego.* 221-233.(E)

**Molecular cloning and physical mapping of the genome of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.**

Clonage moléculaire et cartographie physique du génome du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

MAEDA S., MAJIMA K.

1990 *J. Gen. Virol., Vol.71,* 1851. (E)

**Silkworm *Bombyx mori* as host for foreign genes expression.**

Le ver à soie *Bombyx mori* employé comme hôte pour l'expression de gènes étrangers.

MAEKAWA H., OKANO K.

1989 *Bio. Ind., Vol. 6(9),* 676-683. (J)

**Effects of the digestive juice of silkworm, *Bombyx mori*, on the activity of some exogenous hydrolase.**

Effets du suc digestif du ver à soie *Bombyx mori* sur l'activité de certaines hydrolases exogènes.

MIAO Y-G., *et al.*

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue, Vol. 16(2),* 90-93. (C, e)

**Effect of antijuvenile hormone on growth of the silkworm and quality of cocoons.**

Effet de l'hormone anti-juvénile sur la croissance du ver à soie et la qualité des cocons.

MIAO Y., XIANGSHAN W., XU J.

Zhejiang Agricultural Univ., Hangzhou, Dept. of Sericulture, China.

1989 *Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis, Vol. 15(4) p.* 440. (C)

**Isolation and structure of cecropins, inducible antibacterial peptides, from the silkworm, *Bombyx mori*.**

Isolement et structure des cécropines, peptides antibactériens inductibles, à partir du ver à soie *Bombyx mori*.

MORISHIMA I., SUGINAKA S., UENO T., HIRANO H.

1990 *Comp. Biochem. Physiol., Vol. 95,* 551. (E)

**Structural and kinetic properties of glycogen phosphorylase a from fat body of the silkworm *Bombyx mori*.**

Propriétés structurelles et cinétiques de la glycogène-phosphorylase a dans le corps adipeux du ver à soie *Bombyx mori*.

MORISHIMA I., UENO T.

1990 *Comp. Biochem. Physiol., 96,* 591. (E)

**Osmotic pressure of hemolymph in the silkworm, *Bombyx mori* : its changes during development.**

Pression osmotique de l'hémolymph chez le ver à soie *Bombyx mori* : ses variations au cours du développement.

NAKAYAMA S.

1990 *Agric. Biol. Chem.*, Vol. 54, 797-798. (E)

**Observation of cell lines of several insects infected with NPV of eri-silkworm.**

Observation de lignées cellulaires de plusieurs insectes infectées avec du NPV du ver à soie cri.

PENG J-X., *et al.*

1990 *Canye Kexue*, Vol 16(2), 115-116. (C)

**Molecular cloning of an insect pheromone binding protein.**

Clonage moléculaire d'une protéine fixant la phéromone d'insecte.

RAMING K., KRIEGER J., BREER H.

1989 *Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.*, Vol. 256, 215-218. (E)

**Cyromazine causes decreased cuticle extensibility in larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.**

La cyromazine entraîne une diminution de l'extensibilité de la cuticule chez les larves de *Manduca sexta*.

REYNOLDS S.E., BLAKEY J.K.

University of Bath, Claverton Down, Bath, United Kingdom.

1989 *Pesticide Biochemistry & Physiology*, Vol. 35(3), 251-258. (E)

**Biosynthesis of sex pheromone components from linolenic acid in arctiid moths.**

Biosynthèse des composants de la phéromone sexuelle à partir de l'acide linoléique chez les papillons arctiides.

RULE G.S., ROELOFS W.L.

Cornell University, Geneva, Suisse.

1989 *Archives of Insect Biochem. & Physiol.*, Vol. 12(2), 89-97. (E)

**Biological activity of enantiomerically pure forms of insect juvenile hormone 1 and hormone 3 in, *Bombyx mori*.**

Activité biologique des énantiomères purs de l'hormone juvénile 1 et 3 chez *Bombyx mori*.

SAKURAI S., OHTAKI T., MORI H., FUJIWARA M.

1990 *Experimentia*, Vol. 46, 220.

**Juvenile hormone inhibits 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 chez les glandes prothoraciques de *Bombyx mori*.

SAKURAI S., OKUDA M., OHTAKI T.

Kanazawa University, Marunouchi, Kanazawa, Japan.

1989 *General & Comparative endocrinology*, Vol. 75(2), 222-230. (E)

**Fluctuations in the total haemolymph protein concentration during immature development of *Philosamia ricini* Boisd. under various hygrothermic conditions (Egypt).**

Fluctuations dans la concentration totale des protéines de l'hémolymph au cours du développement immature de *Philosamia ricini* Boisd. sous diverses conditions hygrothermiques (Egypte).

SHABANA M.B., MESBAH H.A., SHELABY A.M., EL DEEB A.S.

Zagazig Univ., Faculty of Agriculture, Egypte.

1990 *Zagazig Journal*, Vol. 8(2), 529-554. (E)

**Free amino pools of the haemolymph of *Philosamia ricini* Boisd. under the effect of various hygrothermic conditions (Egypt).**

Acides aminés libres de l'hémolymph de *Philosamia ricini* Boisd. sous l'effet de diverses conditions hygrothermiques. (Egypte)

SHABANA M.B., MESHAK H.A., SHALABY A.M., EL DEEB A.S.

Zagazig Univ., Faculty of Agriculture, Egypte.

1990 *Zagazig Journal of Agricultural Research*, Vol. 8(2), 500-527. (E)

**Amino acid sequence of silkworm (*Bombyx mori*) hemolymph antitrypsin deduced from its cDNA nucleotide sequence : confirmation of its homology with serpins.**

Séquence des acides aminés de l'antitrypsine de l'hémolymph du ver à soie *Bombyx mori* déduite de la séquence nucléotidique de l'ADN : confirmation de son homologie avec les serpins.

TAKAGI H., NARUMI H., NAKAMURRA K., SASAKI T.

1990 *J. Biochem.*, Vol. 108, 372. (E)

**Effect of silkworm hemolymph treated with sodium thiosulphate on the growths of insect cell cultures.**

Effet du traitement de l'hémolymph de vers à soie par le thiosulfate de sodium sur les croissances des cultures de cellules d'insectes.

TERASAKI A., KAWAI H., SHIMOGORI Y.

1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 350-354. (J, e)

**Variations of amino transferase activity in the gut of *Bombyx mori* (Lepidoptera) during the metamorphosis.**

Variations de l'activité amino-transférase dans l'intestin de *Bombyx mori* (Lépidoptère) au cours de la métamorphose.

URBASEK F.

1989 *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 86(5), 336-341. (E)

**The relevance of molecular biology to pure and applied entomology.**

Le rapport de la biologie moléculaire avec l'entomologie fondamentale et appliquée.

WHITTEN M.

1989 *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 53, 1-16. (E)

**cDNA and gene sequences of *Manduca sexta* arylphorin, an aromatic amino acid-rich larval serum protein. Homology to arthropod hemocyanins.**

Séquences d'ADNc et du gène de l'arylphorine de *Manduca sexta*, une protéine de l'hémolymph larvaire riche en acides aminés aromatiques. Homologie avec les hémocyanines d'arthropodes.

WILLOT E., WANG X-Y, WELLS M. A.

1989 *J. Biol. Chem.*, Vol. 264, 19051-19059. (E)

**Effects of the hemolymph from *Bombyx mori*, immunized with *Escherichia coli*, on the proliferation of plant pathogenic bacteria.**

Effets de l'hémolymph de *Bombyx mori* immunisé avec *Escherichia coli*, sur la prolifération de bactéries pathogènes des végétaux.

YAMAKAWA M., SHIRATA A., TANIAI K., MIYAMOTO K.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 2175. (E)

**Quantitative investigation on nitrogen metabolism in the silkworm, *Bombyx mori*.**

Analyse quantitative du métabolisme de l'azote chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

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

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

1990 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 1, 45-58. (J, e)

**Studies on neurosecretory cells of oak silkworm II. Neurosecretory cells of suboesophageal ganglion.**

Etudes sur les cellules neurosécrétrices du ver à soie du chêne. II. Cellules neurosécrétrices du ganglion sous-oesophagien.

ZHANG Y., LU M., XU Q.

Shenyang Agricultural University, China.

1988 *Journal of Shenyang Agricultural University*, Vol. 19(3), 23-28. (Ch, e)

**Studies on the ultrastructure of prothoracic gland of silkworm, *Bombyx mori*.**

Etudes sur l'ultrastructure de la glande prothoracique du ver à soie *Bombyx mori*.

ZHOU N.-M., et al.

Zhejiang Agricultural University, China.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 145-148. (C, e)

**Cyclic GMP levels and guanylate cyclase activity in pheromone sensitive antennae of the silkmooths *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*.**

Taux de GMP-cyclique et activité de la guanylate-cyclase chez les antennes sensibles à la phéromone des vers à soie *Antheraea polyphemus* et *Bombyx mori*.

ZIEGELBERGER G., VAN DEN BERG M.J., KAISLING K.E., KLUMPP S. et al.

1990 *J. Neurosci.*, Vol. 10, 1217. (E)

## Vers à soie : oeufs, embryologie

## Silkworms : eggs, embryology

### **Nonselective uptake of different 30kDa plasma proteins by developing ovaries of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Absorption non sélective des différentes protéines plasmatiques de 30 KD par les ovaires du ver à soie *Bombyx mori*.

CHEN Y-L., YAMASHITA O.

Lab. Sericultural Science, School of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464-01, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 202-209. (E)

### **Glycerol formation in silkworm eggs.**

Formation de glycérol dans les oeufs de vers à soie.

GEETHABALI, CHANDRASHEKAR P.M.

1989 *Proc. Indian Acad. Sci. Anim. Sci.*, Vol. 98(3), 187-191. (E)

### **Tissue-specific expression of silkworm chorion genes *in vivo* using *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus as a transducing vector.**

Etude de l'expression tissulaire spécifique des gènes du chorion *in vivo* en utilisant le virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* comme vecteur de transduction.

IATROU K. MEIDINGER R.G.

Department of Medical Biochemistry, Univ. of Calgary, 3330 Hospital drive, Calgary.

1990 *Biochemistry*, Vol. 87, 3650-3654. (E)

### **Maternal messenger RNA distribution in silkworm eggs.**

Distribution d'ARNm maternel dans les oeufs du papillon du ver à soie.

KASTER W.H., WATSON G.A., BERRY S.J.

1990 *Development*, Vol. 108, 497. (E)

### **Maternal messenger RNA distribution in silkworm eggs 1. Clone Ec4B is associated with the cortical cytoskeleton.**

Distribution des ARN messagers maternels dans les oeufs des papillons de ver à soie. 1. Le clone Ec4B est associé au cytosquelette cortical.

KASTER W. H., WATSON C. A., BERRY S. J.

1990 *Development*, Vol. 108, 497-505. (E)

**Eclosion hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. Expression in *Escherichia coli* and location of disulfide bonds.**

Hormone d'éclosion du ver à soie *Bombyx mori*. Expression chez *Escherichia coli* et localisation des ponts disulfures.

KONO T., NAGASAWA H. KATAOKA H., ISOGAI A., FUGO H., SUZUKI A.  
1990 *Febs lett.*, Vol. 263, 358. (J)

**Genetic studies on the diapause phenomenon in *Bombyx*. 2. A possible role of the central nerve center system on adaptation.**

Etudes génétiques sur le phénomène de diapause chez *Bombyx*. 2. Rôle possible du système nerveux central dans l'adaptation.

MURAKAMI A.

1989 *Annual Report National Institute of Genetics Japan*, Vol. 40, 63-65. (E)

**Genetic studies on the diapause phenomenon in *Bombyx*. 1. Seasonal adaptation of the tropical multivoltine race in the temperate zone.**

Etudes génétiques sur le phénomène de la diapause chez *Bombyx*. 1. Adaptation saisonnière des races polyvoltines tropicales en zone tempérée.

MURAKAMI A.

1989 *Annual Report of National Institute of Genetics Japan*, Vol. 40, 62-63. (E)

**Genetic studies on the diapause phenomenon in *Bombyx*. 3. Artificial modification of the diapause state in temperate races to nondiapause type.**

Etudes génétiques sur le phénomène de la diapause chez *Bombyx*. 3. Modification artificielle de l'état de diapause des races tempérées en état non diapausant.

MURAKAMI A.

1989 *Annual Report of National Institute of Genetics Japan*, Vol. 40, 65-66. (E)

**The mutagenic activity of a carcinostatic drug, Neocarzinostatin, in germ cells of, *Bombyx mori* L.**

Activité mutagène d'une drogue carcinostatique, la Neocarcinostatine, sur les cellules germinales de *Bombyx mori* L.

MURAKAMI A.

1989 *Annual Report of National Institute of Genetics Japan*, Vol. 40, 66-68. (E)

**Role of endopeptidase in motility induction in apyrene silkworm spermatozoa. Micropore formation in the flagellar membrane.**

Rôle de l'endopeptidase dans l'induction de la mobilité chez les spermatozoïdes du ver à soie apyrènes. Formation de micropores dans la membrane flagellaire.

OSANAI M., KASUGA H.

1990 *Experientia*, Vol. 46, 261. (J?)

**Characterization of a basic polypeptide activated protein kinase in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Caractérisation d'un polypeptide fondamental activant la protéine-kinase dans les oeufs du ver à soie *Bombyx mori*.

SAITO H., SHINOHARA C., OHTSUKI K.  
1990 *Biochim. Biophys. Acta*, Vol 1035, 161.

**Survival of larval ovaries and testes frozen in liquid nitrogen in the silkworm, *Bombyx mori*.**  
Survie des ovaires larvaires et des testicules du ver à soie *Bombyx mori* congelés dans l'azote liquide.  
SHINBO H.

National Institute of Sericultural & Entomol. Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.  
1989 *Cryobiology*, Vol. 26, 389-396. (E)

**Non-glutinous egg production by using a trehalase inhibitor, validoxylamine A in, *Bombyx mori*.**  
Production d'oeufs non glutineux à l'aide d'un inhibiteur de tréhalase, la validoxylamine A, chez *Bombyx mori*.

TAKEDA S., KONO Y., KAMEDA Y.  
1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 360-365. (J,e)

**Conditions of termination of pharate larval diapause of *Antheraea yamamai* and localization of diapausing factor.**

Conditions de levée de la diapause pré-imaginale d'*Antheraea yamamai* et localisation du facteur diapausant.

TAN E., NAGATA N., KOBAYASHI M.  
1990 *The Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 366-374. (J, e)

**Effect of high temperature and airtight environment on induction of non-pigmented dead eggs in female pupae of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Effet de la température élevée et d'un environnement hermétique sur l'induction d'oeufs morts non pigmentés chez les nymphes femelles du ver à soie *Bombyx mori*.

WILAI S., SUGAI E., OSHIKI T.  
Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan  
1990 *Journal Seric Sci. Japan*, Vol. 59(4), 265-270. (E)

**Distinct effects of different low temperatures on the induction of NAD-sorbitol dehydrogenase activity in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.**

Effets distincts de différentes températures basses sur l'induction de l'activité NAD-sorbitol déshydrogénase dans les oeufs diapausants du ver à soie *Bombyx mori*.

YAGINUMA T., KOBAYASHI M., YAMASHITA O.  
1990 *J. Comp. Physiol.*, Vol. 160, 277. (E)

**Induction of the triploid silkworm, *Bombyx mori* by the-hot water treatment to the inseminated eggs immediately after oviposition.**

Induction de vers à soie triploïdes *Bombyx mori* par traitement à l'eau chaude des oeufs fécondés immédiatement après oviposition.

YOKOYAMA T., SUGAI E., OSHIKI T., ZHONG P.Q.  
Faculty of Agric., Tokyo University of Agriculture & Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan.  
1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 218-224. (J,e)

**Identification, Purification of Vitellin from the Chinese oak silkworm and its content change during oogenesis and embryogenesis.**

Identification et purification de la Vitelline du ver à soie du chêne japonais et variation de son contenu au cours de l'ovogénèse et de l'embryogénèse.

ZHU J., et al.  
Suzhou School of Sericulture, China.  
1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(3), 158-164. (C, e)

## Vers à soie : glandes séricigènes

## Silkworms : silk glands

### **C and P NMR analyses of the cultured posterior silk gland of the silkworm, *Bombyx mori* : silk fibroin production and the effect of sorbitol-6-phosphate.**

Analyses de C et P par RMN dans les sécréteurs de glandes séricigènes du ver à soie *Bombyx mori* en culture : production de fibroïne et effet du sorbitol-6-phosphate.

ASAKURA T., YAMADA H., DEMURA M., OSANAI M.

Fac. of Technology, Tokyo Univ. of Agric. and Tech., 2-Chome, Nakamachi, Tokyo 184, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(3), 261-266. (E)

### **Nucleic acid metabolism in mid-gut and post-silk gland of oak silkworms in fifth instar.**

Métabolisme des acides nucléiques dans l'intestin moyen et la partie postérieure de la glande séricigène du ver du chêne au 5ème âge.

HU A., LU M., ZHENG Y.

Shenyang Agricultural University, China.

1989 *Journal of Shenyang Agricultural University*, Vol. 19(1), 66-68. (C)

### **Fibroin gene promoter contains a cluster of homeodomain binding sites that interact with three silk gland factors.**

Le promoteur du gène de la fibroïne contient un groupement de sites de liaisons "homéotiques" qui interagissent avec trois facteurs de la glande séricigène.

HUI C-C., MATSUNO K., SUZUKI Y.

Dept. of Develop. Biology, National Inst. for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1990 *J. Mol. Biol.*, Vol. 213, 651-670. (E)

### **Homeodomain binding sites in the promoter region of silk protein genes.**

Sites de liaisons "homéotiques" dans la région du promoteur des gènes de la soie.

HUI C-C., SUZUKI Y.

Dept. of Develop. Biol., National Instit. for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1990 *Develop. Growth & Differ.*, Vol. 32(3), 263-273. (E)

### **Enhancement of transcription from the Ad2 major late promoter by upstream elements of the fibroin-and sericin-1-encoding genes in silk gland extracts.**

Stimulation de la transcription à partir du promoteur tardif d'Ad2 par des éléments situés en amont des gènes de la fibroïne et de la séricine1 dans des extraits de glandes séricigènes.

HUI C-C., SUZUKI Y.

Dept. of Develop. Biology, National Institute for basic Biol, Myodaji, Okazaki 444, Japan.

1989 *Gene*, Vol. 85, 403-411. (E)

**Homeodomain binding sites in the 5' flanking region of the, *Bombyx mori* silk fibroin light-chain gene.**

Sites de liaison "homéotique" dans la région 5' flanquante du gène de la chaîne lourde de la fibroïne de *Bombyx mori*.

HUI C-C., SUZUKI Y., KIKUCHI Y., MIZUNO S.

Dept. of Develop. Biology National Inst. for basic Biology, Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1990 *J. Mol. Biol.*, Vol. 213, 395-398. (E)

**Transcriptional stimulation via SC site of *Bombyx* sericin-1 gene through an interaction with a DNA binding protein SGF-3.**

Stimulation de la transcription via le site SC du gène sérécine-1 par une interaction avec le facteur protéique se liant à l'ADN, SGF-3.

MATSUNO K., TAKIYA S., HUI C-C., SUZUKI T., FUKUTA M., UENO K., *et al.*

Depart. of Develop. Biology, National Inst. for Basic Biol. Myodaiji, Okazaki 444, Japan.

1990 *Nucleic Acids Research*, Vol. 18(7), 1853-1858. (E)

**Purification of a DNA supercoiling factor from the posterior silk gland of *Bombyx mori*.**

Purification d'un facteur de superenroulage de l'ADN à partir de la glande sérécigène postérieure de *Bombyx mori*.

OHTA T., HIROSE S.

DNA Research Center, National Inst. of Genetics, Mishima 411, Japan.

1990 *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 87, 5307-5311. (E)

**Effect of trimolting silkworm inducer SM-1 on the regulation mechanisms of silk fibroin synthesis of silkworm. II. Effects of SM-1 on the synthetic rate of DNA and nucleic acid contents in the posterior silk glands.**

Effet de l'inducteur trimuant SM-1 sur les mécanismes de régulation de la synthèse de la fibroïne chez le ver à soie. II. Effets de SM-1 sur le taux synthèse d'ADN et le contenu en acides nucléiques dans le sécréteur de la glande sérécigène.

SHEN Z-Y., *et al.*

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

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 85-89. (C, e)

**Genetic engineering at genome level in silkworm.**

Génie génétique au niveau du génôme chez le ver à soie.

STRUNNIKOV V.A.

1988 *Uspekhi sovremennoj genetiki (USSR)*, Vol. 15, 3-64. (R)

**Differential transcription of the fibroin and sericin-1 genes in cell-free extracts.**

Transcription différentielle des gènes de la fibroïne et de la sérécine-1 dans des extraits acellulaires.

SUZUKI Y., OBARA T., TAKIYA S., HUI C-C., MATSUNO K., SUZUKI T., *et al.*

National Institute for Basic Biology, Myodaiji-cho, Okazaki 444, Japan.

1990 *Develop. Growth & Differ.*, Vol. 32(2), 179-187. (E)

**Factors involved in preferential transcription of the fibroin gene.**

Facteurs impliqués dans la transcription préférentielle du gène de la fibroïne.

TAKIYA S., SUZUKI Y.

Department of Developmental Biol., National Inst. for Basic Biol., Okazaki, Japan.

1989 *Eur. J. Biochem.*, 179, 1-9. (E)

## Soie

## Silk

### **The fabric properties of "Garabo" spun silk made from cocoon fibers.**

Les propriétés du tissu de soie filée "Garabo" réalisée à partir de fibres de cocon.

AOKI A., TAKAHASHI T., KANDA C.

1990 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 3, 47-58. (J)

### **An ESR study of spin-labeled silk fibroin membranes and spin-labeled glucose oxidase immobilized in silk fibroin membranes.**

Etude ESR des membranes de fibroïne et de la glucose-oxydase fixée sur les membranes de fibroïne de soie.

ASAKURA T., YOSHIMIZU H., KAKIZAKI M.

1990 *Biotechnol. Bioeng.*, Vol.35(5), 511-517. (E)

### **Genetic engineering of structural protein polymers.**

Génie génétique des polymères de protéines structurales.

CAPPELLO J., CRISSMAN J., DORMAN M., MIKOLAJCZAK M., TEXTOR G.

1990 *Biotechnol. Prog.*, Vol. 6(3), 198-202. (E)

### **On the estimation of the percentage of eliminated cocoon in cocoon testing.**

Estimation du pourcentage de cocons éliminés lors des contrôles.

CHEN H., SHIMAZAKI A., MIURA M.

Fac Agric., Univ. of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113. Fac. Text. Sci. Shinshu Univ. Ueda, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 182-186 (J,e)

### **Application of water-soluble silk.**

Une application de la soie soluble dans l'eau.

HIRABAYASHI K.

1989 *Bio Ind.*, Vol. 6(10), 749-754. (J)

### **Development of new functional silk.**

Développement d'une nouvelle soie fonctionnelle.

HIRABAYASHI K.

1989 *Kobunshi*, Vol. 38(12), 1062-1065. (J)

**Studies on physical properties of weighting silk by water soluble fibroin.**

Etudes sur les propriétés physiques de la soie chargée avec de la fibroïne soluble dans l'eau.

HU G., ARAI M., HIRABAYASHI K.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59, 26-33. (J)

**ESR study of copper(2+)-tussah silk protein complexes.**

Etude de la résonnance électronique des complexes de la protéine de soie tussah et des ions cuivre.

JI T.,

1989 *Bopuxue Zazhi*, Vol.6(3), 277-281. (C)

**Mechanical properties and hand feeling of knitted fabric composed of silk yarns subjected to salt-shrinking, fiber dispersion and resin-curing treatments.**

Propriétés mécaniques et toucher d'un tissu tricoté réalisé avec des fils de soie soumis à la rétraction par le sel, à la dispersion des fibres et aux traitements protecteurs à la résine.

KATO H.

1990 *The Journal of Sericultural Science Japan*, Vol. 59(5), 341-349. (J, e)

**Dispersion treatment of fibers and surface resin curing for silk yarn crimped by salt shrinking.**

Traitement de dispersion des fibres et traitement protecteur à la résine des fils de soie frisés par rétraction au sel.

KATO H.

National Institute of Seric. & Entomol. Scie., Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 280-287. (J, e)

**Development of crimped silk yarn finished by salt shrinking and fiber dispersion treatment.**

Développement de fils de soie frisée obtenus par rétraction au sel et dispersion des fibres.

KATO H.

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

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 271-279. (J, e)

**Characteristics of preparation of fibroin solutions and their structural and mechanical properties.**

Caractéristiques de la préparation de solutions de fibroïne et leurs propriétés mécaniques et structurelles.

KHAMRAEV A. L., KHUDAIBERDYEVA D. B., KAMILOVA S.D., ZAKIROV I. Z.

1989 *Uzb. Khim Zh.*, Vol. 6, 34-37. (R)

**Dyeing of the silk : the latest trend.**

Teinture de la soie : la dernière tendance.

KIMURA M., SHIMIZU Y.

Dept. Education, Mie Univ., Tsu city 414. / Shiga Prefec. Jun. College Hikone 522. Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 161-170. (J)

**Expert system for cocoon cooking by the application of Fuzzy rules.**

Système-expert pour l'étouffage des cocons développé à l'aide des règles Fuzzy.

KINOSHITA H., TAJIMA F.

Nagano Prefec. Research Institute for Information Techn., Matsumoto, Nagano 399, Japan.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 311-315. (J, e)

**Graft-copolymerization of methacrylamide onto raw silk.**

Copolymérisation par greffage de méthacrylamide sur de la soie grège.

LEE Y.W., SONG K.E., KIM J.H.

Rural Development Administration, Suwon Sericultural Experiment Station, Suwon, Korea.

1989 *The Research Reports of the Rural Develop. Administ.*, Vol. 31(2), 13-17. (Ko)

**Effect of temperature and time in silk-drying on mechanical properties of raw silk.**

Effet de la température et du temps de séchage de la soie sur les propriétés mécaniques de la soie grège.

LIE J.

Southwest Agricultural University, China.

1989 *Journal of Southwest Agricultural University*, Vol. 11(3), 325-329. (C)

**Isolation, cloning and physiological characterization of spider silk from the golden orb weaver, *Nephila clavipes*.**

Isolement, clonage et caractérisation physiologique de la soie de l'araignée, *Nephila clavipes*.

LOMBARDI S., KAPLAN D. L.

1990 *Polym. Prep. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)* Vol. 31(1), 195-196. (E)

**Studio sullo svolgimento delle matasse di seta.**

Etude de la dévidabilité des flottes de soie.

LYONNET A., SOTTON M.

Institut Textile de France. Lyon.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale*, Vol. XLIII n1, 5-7. (I, f)

**Fine structure and oxygen permeability of silk fibroin membrane treated with methanol.**

Structure fine et perméabilité à l'oxygène de membranes de fibroïne de soie traitées au méthanol.

MINOURA N., TSUKADA M., NAGURA M.

1990 *Polymer*, Vol. 31(2), 265-269. (E)

**Physico chemical properties of silk fibroin membrane as a biomaterial.**

Propriétés physico-chimiques de membranes de fibroïne de soie.

MINOURA N., TSUKADA M., NAGURA M.

1990 *Biomaterials*, Vol. 11, 430.

**Development of the new silk materials.**

Développement de nouveaux tissus de soie.

MIZUIDE M.

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

1989 *Research J. of Food & Agriculture*, Vol. 12(4), 26-31. (J)

**Dynamic characteristics of the raw silk and the silk fabric obtained by the silk race (SG40 × D55).**

Caractères dynamiques de la soie grège et du tissu de soie obtenus par la race (SG40 × D55).

OKONOGI E., MIKI M., HIRAO C.

1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 331-335. (J)

**Macchina per la trattura della seta.**

Machine à dévider la soie.

Officina Meccanica bassanese S.R.L.

Via L. Da Vinci 42, 36034 Malo. Italy.

1990 *La Seta, Bollettino ufficiale*, Vol. XLIII n1, 29-30. (I)

**Relationship between neatness of silk varieties and temperature-humidity in cocooning frame.**

Rapport entre la netteté de certaines variétés de soie et la température et l'humidité lors de l'encabanage.

SHI X-M., et al.

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 117. (C)

**Study of changes in raw silk quality in rereeling process.**

Etude des variations de la qualité de la soie grège au cours du processus de redévidage.

SHIGEMATSU M.

1990 *Journal Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(4), 316-318. (J)

**Development of a computer control system of the reeling process.**

Mise au point d'un système de contrôle par ordinateur du processus de filature.

TAKABAYASHI C.

Filature Tech., Matsumoto Branch, Nat. Inst. Seric. Entomol. Sci., Okaya, Nagano 394, Japan

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(3), 171-181. (J,e)

**Characterization of the regenerated silk fibroin from *Bombyx mori*.**

Caractérisation de la fibroïne de soie régénérée de *Bombyx mori*.

TSUKADA M., GOTO Y., MINOURA N.

1990 *The Journal of Seric. Scie. Japan*, Vol. 59(5), 325-330. (J, e)

**Developing cocoon dryer by cyclo-hot-blast air.**

Mise au point d'un étouffoir à cocons à chaleur tournante.

WANG L-M., et al

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(2), 99-103. (C, e)

**Primary structure of the silk fibroin light chain determined by cDNA sequencing and peptide analysis.**

La structure primaire de la chaîne légère de la fibroïne de soie déterminée par la séquence d'ADNc et l'analyse du peptide.

YAMAGUCHI K., KIKUCHI Y., TAKAGI T., KIKUCHI A., OYAMA F. et al.

1989 *J. Mol. Biol.*, Vol. 210, 127-139. (E)

**Physico chemical properties of three molter raw silk changed by anti JH.**

Propriétés physico chimiques de la soie grège d'un trimuant obtenu par une anti-JH.

YOSHIDA M., NAKANISHI K., SUEMITSU K.

1989 *Kiito Kensa Kenkoku Hokoku*, Vol. 42, 11-9. (J)

**Preparation and characterization of silk fibroin powder and its application to enzyme immobilization.**

Préparation et caractérisation de la poudre de fibroïne de soie et son application pour l'immobilisation des enzymes.

YOSHIMIZU H., ASAKURA T.

*1990 J. Appl. Polym. Sci., Vol. 40(1/2), 127-134. (E)*

**Mechanism of silk scouring.**

Mécanisme du lessivage de la soie.

YOU Q.

*1989 Fangshi Xuebao, Vol. 10(7), 295-298. (C)*

**Relationship between silkworm spinning conditions and cocoon physical properties.**

Relation entre les conditions de filage du ver à soie et les propriétés physiques du cocon.

ZHU L.J.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, China.

*1990 Canye Kexue, Vol. 16(2), 71-73 (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 25 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

## INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to : **Dr G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.
- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.
- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

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

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 × 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

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

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

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

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

\*\*\*