

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)
COUBLE P. (France)
DATTA R.K. (Inde / India)
DOIRA H. (Japon / Japan)
FOURCHE J. (France)
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)
XIA J-G. (Chine / China)

SOMMAIRE - CONTENTS

Erratum	401
-------------------	-----

Articles originaux / Original papers

Histochemical and histopathological studies on the midgut epithelium of <i>Bombyx mori</i> larvae affected by <i>Bacillus sphaericus</i>	403
Etudes histochimiques et histopathologiques de l'épithélium de l'intestin moyen des larves de <i>Bombyx mori</i> infestées par <i>Bacillus sphaericus</i>	413
S. MATHAVAN, P.M. SUDHA, P. MUTHU	

Relative susceptibility of different races of silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., to nuclear polyhedrosis under natural and induced conditions	417
Sensibilité relative de différentes races du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. à la polyédrose nucléaire dans des conditions naturelles et induites	421
M. BAIG, S.D. SHARMA, M. BALAVENKATASUBBAIAH, M.V. SAMSON, T.O. SASHIDHARAN, M.R. NOAMANI	

Muscardine disease of silkworms controlled by triazoles	423
Elimination de la muscardine des vers à soie par les triazoles	427
V.M. SREEDHARA, M.P. SHREE, G. BORAIAH, R.A. FLETCHER	

Comparative study on the nutritive value of bush, low-cut and tree mulberry leaves at different maturity stages	429
Etude comparative de la valeur nutritive des feuilles de mûriers à différents stades de maturité et provenant de buissons, d'arbres et d'arbres taillés	437
M.A. QADER, A.A. SARKER, S.U. AHMED	

Changes in the elemental composition of mulberry leaves (<i>Morus alba</i> L. var. S-54) infected by foliar pathogens	441
Changements de la composition en éléments chimiques des feuilles de mûrier (<i>Morus alba</i> v. S-54) infectées par des pathogènes foliaires	445
M.P. SHREE, N.N. UMESH KUMAR	

Varietal differences and correlation studies in the nutritional composition of the mulberry	449
Etudes des différences variétales et des corrélations dans la composition nutritionnelle du mûrier	455
M.A. QADER	

Studies on the seed storage and seed viability of the mulberry (<i>Morus</i> spp.)	459
Etudes sur la conservation et la viabilité des graines de mûrier (<i>Morus</i> spp.)	465
S.B. DANDIN, BASAVAIAH, M.V. RAJAN	

Stabilité phénotypique chez le mûrier	469
Phenotypical stability in the mulberry	475
J.E. ALMEIDA, A.R. SOARES, M.A.P. RAMALHO, T.C. FONSECA	

Environmental regulation of voltinism in <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera : Saturniidae), the Indian tasar silk insect	479
Régulation du voltinisme par l'environnement chez le ver à soie tasar indien <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera : Saturniidae)	487
B.K. NAYAK, M.C. DASH	

Ultrastructure of the head, spinneret, silk gland and egg of Eri silkworms, <i>Philosamia ricini</i>	493
Ultrastructure de la tête, de la filière, de la glande séricigène et de l'oeuf du ver à soie Eri <i>Philosamia ricini</i>	509
P.M. NAMBIAR, N.A. PRAKASH, K.P. GOPINATHAN	

Influence of softened water in mulberry silk reeling	513
Influence de l'eau adoucie sur le dévidage de la soie mûrier	521
T.N. SONWALKAR, M.K. MAJUMDAR, J. PRABHU	

Dyeing silk with vegetable dye. I (Onion Skin)	525
Teinture de soie avec des colorants végétaux. I - Peau d'oignon	529
M.K. VIJAYEENDRA, V.V. HADIMANI, B.R. DAYAKAR YADAV	

Notes brèves / Brief notes

Comparative efficacy of some rearing tray disinfectants in prevention of silkworm white muscardine caused by <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuil.	533
Comparaison de l'efficacité préventive de certains désinfectants pour les claies d'élevages contre la muscardine blanche causée par <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuil.	537
M.S. BIRAREDDY, M.C. DEVAIAH, T.K. NARYANASWAMY, R. GOVINDAN, M.B. SHYAMALA	

Effect of mating duration on the egg laying and their hatchability in the Eri silkworm, <i>Philosamia ricini</i> Hutt. (Lepidoptera : Saturniidae)	539
Effet de la durée de l'accouplement sur la ponte des oeufs et leur éclosion chez le ver à soie Eri <i>Philosamia ricini</i> Hutt. (Lepidoptera : Saturniidae)	543
S.D. MISRA, K.L. JOSHI	

Synaptonemal complex karyotype of an Indian silkworm, <i>Antheraea roylei</i>	545
Caryotype des complexes synaptonémaux du ver à soie indien <i>Antheraea roylei</i>	549
S.C. KUNDU, N. IBOTOMBI, Th. BHAGIRATH	

Studies on the bionomics of the vapourer tussock moth, <i>Notolophus antiqua</i> Linn. (Lepidoptera : Lymantriidae)	551
Etudes sur la bionomie de l'orgyie <i>Notolophus antiqua</i> Linn. (Lepidoptera : Lymantriidae)	555
R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, N. KUMAR, S.S. SINHA	

A new record of <i>Paracarophenax dermestidarum</i> Rack (Acarina : Acarophenacidae) attacking the eggs of <i>Dermestes ater</i> DeGeer (Coleoptera : Dermestidae) in India	557
Première observation de l'infestation des oeufs de <i>Dermestes ater</i> DeGeer (Coleoptera : Dermestidae) par <i>Paracarophenax dermestidarum</i> Rack en Inde	561
M. GEETHA BAI	

Bibliographie / Bibliography	563
---	------------

ERRATUM

Une erreur s'est glissée dans le sommaire de la première partie de la session III du compte-rendu de la XIIIe Conférence de la CSI -page 113, volume 31(1)- et nous a fait attribuer l'exposé intitulé "Current status of studies on hormones in *Bombyx* silkworm", présenté par le Dr Masatochi Kobayashi à un autre chercheur.

Nous prions le Dr Kobayashi et nos Membres associés de bien vouloir nous en excuser.

ERRATUM

A mistake has slipped into the contents of Session III, Part I of the 13th ISC Conference report -page 113, volume 31(1). We wrongly attributed the talk entitled 'Current status of studies on hormones in *Bombyx* silkworm' presented by Dr Masatochi Kobayashi to another scientist.

We apologize to Dr Kobayashi and our Associate Members for this error.

HISTOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON THE MIDGUT EPITHELIUM OF *BOMBYX MORI* LARVAE AFFECTED BY *BACILLUS SPHAERICUS*

S. MATHAVAN*, P. M. SUDHA* & Sm. P. MUTHU**

* School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625021, India.

** Department of Biology, Sri Paramakalyani College, Alwarkurichi 627412, India.

Silkworm larvae force-fed with the biocide from B. sphaericus show histopathological and histochemical changes in their midgut epithelium. Hypertrophy of cells, blebbing of plasma membrane, disruption of microvilli, loss of cytoplasmic basiphilia due to decrease in RNA, diminished protein synthesis, vacuolation, destruction of cytoplasmic organelles, irreversible nuclear changes leading to necrosis and infiltration of glycogen have been observed. Like any other Bacillus toxins, the B. sphaericus toxin affects the midgut epithelial cells of contact by changing the permeability, disturbing the electrolyte balance and the consequent processes.

Keywords : *B. mori* larvae, histochemical and histopathological changes, *B. sphaericus* effect, midgut epithelium.

INTRODUCTION

Bacillus sphaericus is a spore forming bacterium ; sporulating cells and the mature spore synthesised by *B. sphaericus* are toxic to insects and particularly to mosquito larvae (Jayaraman *et al.*, 1980 ; Mathavan and Velpandi, 1984). The toxin is termed as "biocide" and is being considered for field application for the control of target insect namely the mosquito larvae. However, subtoxic concentrations of biocide from *B. sphaericus* strains 2362 and 1593 have been shown to inflict deleterious effects on non-target aquatic insects (Mathavan *et al.*, 1987 ; Velpandi, 1988). *Bacillus* species such as *B. thuringiensis* and *B. sotto* are pathogenic to *B. mori* larvae ; histochemical and histopathological effects of these pathogens have been demonstrated (Angus and Heimpel, 1956 ; Endo and Nishiitsutsuji Uwo, 1980 ; Mathavan *et al.*, 1989). The mode of action of *B. thuringiensis* subspecies has been studied extensively during the past 2 decades. Among the spore forming bacilli, *B. sphaericus* produces protoxins during sporulation and these proteins are deposited on the surface of the spore. When the spore is ingested by susceptible larvae (i.e., Lepidoptera and Diptera), the protoxin is solubilized in the alkaline, reducing environment of the midgut. The midguts of these larvae also contain proteases necessary to convert the protoxins into toxins and perhaps receptors on the surface of midgut epithelial cells to which the toxins (or protoxins) bind to initiate their action (Fast *et al.*, 1978 ; Huber and Luthy, 1981 ; Davidson, 1983 ; Knowles *et al.*, 1984 ; Aronson *et al.*, 1986 ; Hofte and Whiteley, 1989). The studies of Harvey and Wolfersberger (1979) have demonstrated that the toxin specifically inhibits an active electrogenic K⁺ pump located in the plasma membrane of midgut epithelial cells.

Bacillus sphaericus toxin has a broad spectrum of polypeptides extractable from spores and sporulating cultures including a 43-kDa protein that is derived from a precursor of > 100 kDa (Baumann *et al.*, 1985). However, the pathogenic effects of *B. sphaericus* on the larvae of *B. mori* have never been studied and the present work is the first report in this field. This work has been

attempted for the following reason : the proposed field application of biocide from *B. sphaericus* to control mosquito larvae might lead to the possible infection of *B. mori* ; hence the understanding of the pathogenicity of *B. sphaericus* on silkworm larvae is wanted.

MATERIALS AND METHODS

Strain of *B. sphaericus* 2362 was grown in a nutrient broth at room temperature in a rotary shaker. With a tenfold inoculum (the volume of culture was 10 times that of the preculture to be inoculated), the culture entered into the stationary phase within 24 hr. The culture was spun at 5000 rpm for 20 min. and cells were harvested. The pellet contained maximum matured spores and some sporulating cells ; the pellet was suspended in 0.85 % saline (0.85 g of NaCl in 100 ml water) and stored in the freezer for the present study. Protein (mg/ml) present in the suspension was estimated following the method of Lowry *et al.*, (1951).

Treatment :

Biocide was introduced into the silkworm larvae by the following method. *B. sphaericus* toxin at known concentrations (μg protein/ml) was force-fed to midfifth instar larvae of *B. mori* ; a microsyringe (Hamilton syringe - 10 μl capacity) was used for this. *B. sphaericus* bacterial suspension had a protein concentration of 6000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

For the experiment, the worms were force-fed with bacterial suspension containing 5 μg , 3 μg and 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of protein ; the effect of the toxin was studied after 24 hrs of treatment. For each of these concentrations, a batch of fifteen larvae were used.

Control worms were force-fed with appropriate quantities of plain saline. The midguts were processed for comparison.

Histopathological and histochemical studies :

Midgut tissues, for histopathological studies, were fixed in Zenker, Helly, Clarke and Lillie's fixatives. After dehydration they were cleared and embedded in celloidin-paraffin according to Peterfi's method (Drury and Wallington, 1967). Sections of 7 μm thickness were stained in monochrome, dichrome and trichrome combinations. For histochemical studies, the tissues were processed exactly as above and 7 μm sections were stained in toluidine blue (with or without prior digestion in RNase) for RNA, in malachite green pyronine for DNA and RNA and in alcian blue for mucus ; acrolein-Schiff reaction for proteins, and PAS for carbohydrates. The details of the methods are given in the paper of Mathavan *et al.* (1989).

RESULTS

As recorded earlier (Mathavan *et al.*, 1989), the midgut epithelium of *B. mori* is composed of three kinds of cells ; the columnar cells, the goblet cells and the regenerative cells. The epithelium is protected by a peritrophic membrane which lines the lumen of the midgut (Fig. 1, Fig. 2). The toxin penetrated the peritrophic membrane and affected the epithelial cells. The changes observed in the midgut cells of the larvae exposed to different concentrations of the toxin are given below :

Larvae treated with 1 μg of toxin for 24 hrs :

The epithelium is apparently healthy and normal. The pathological changes are not much ; only a few cells show hypertrophy ; the columnar cells increase in size and their nuclei also swell up ; large vacuoles appear in the acidophil cell and appear to be empty. There was no remarkable change at the distal pole of the cells. Histochemically there is very slight decrease in RNA and protein in the affected cells.

Larvae treated with 3 μg of toxin for 24 hrs :

More cells of the epithelium are affected. The columnar cells as well as the acidophil cells manifest pronounced hypertrophy. A few healthy cells can also be seen in their midst. In one of the larvae, a columnar cell had undergone maximum hypertrophy, as a result of which it has become

almost spherical with an extremely large oval nucleus (Fig. 3). The columnar cells lose their structural organisation ; the cytoplasm becomes hyaline ; the apical region becomes dome-shaped ; in some cells this region is lysed and the integrity of the cell is lost. All these happen despite the presence of many folded layers of peritrophic membrane (Fig. 4). The RNA content and protein content of the cell show remarkable decrease.

Larvae treated with 5 µg for 24 hrs :

The epithelium shows drastic pathological changes ; the free surfaces of the columnar cells which possess microvilli are disrupted and present a corroded appearance. Hypertrophy of epithelial cells is at its maximum. The plasma membrane erupts into numerous small and medium-sized vesicles, some of which show long, narrow stalks by which they are attached to the cells (Fig. 5, Fig. 6). Many of these eversions are too small and perfectly spherical. Vacuolation of the acidophil cells is remarkable. Pieces of columnar and acidophil cells detach from the epithelium and reach the lumen where they undergo lysis. Fragmentation of the chromatin (karyorrhexis) is a common feature of the affected cells. As shown in Fig. 12, the nuclei of the affected columnar cells disintegrate completely ; it is very difficult to identify the nuclei in such cells ; necrosis of the cell and nucleus takes place when treated with this concentration of toxin. Concomitant to the hypertrophy and the change of cytoplasm into hyaline substance, the RNA content of the columnar cells becomes very low (Fig. 10). A comparison with the normal gut epithelium (Fig. 9) will reveal the extent to which there is a loss of RNA in the affected cell. The regenerative cell also exhibits a decrease in RNA content. Fig. 11 shows the abundance of protein in the epithelial cells, particularly in the columnar cells. Fig. 12 indicates the fall in the protein content of the columnar cells as a result of treatment with *B. sphaericus*.

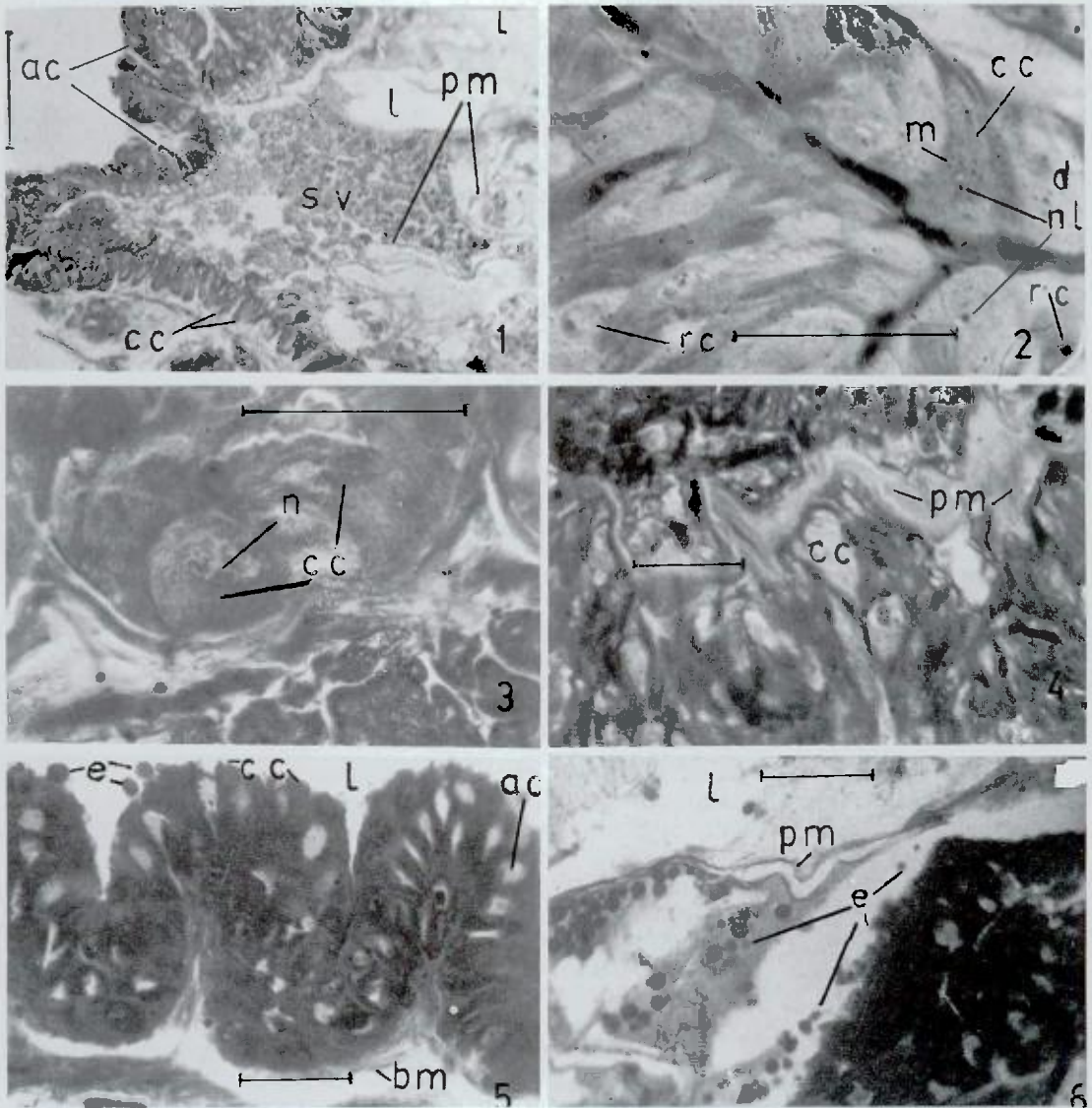
The effect of *B. sphaericus* on the epithelium is striking as far as glycogen uptake is concerned. A comparison of figures 7 and 8 will elucidate the differences in the glycogen content. In the treated animal, the columnar cells are very rich in their glycogen content ; in fact, the cytoplasm is fully loaded with glycogen as shown by the intense PAS-positive reaction. Incidentally, the absence of mucocytes or mucopolysaccharides anywhere in the epithelium is to be mentioned.

DISCUSSION

There exist many gaps in our knowledge of cellular pathology in spite of several studies employing light and electron microscopes. Studies on cytopathology and the cytochemistry of the cells injured by pathogens must be undertaken in greater numbers in order to make our knowledge of the processes complete and to have greater insight.

Cameron (1970) epitomizes thus : 'all dying cells pass through the same stages, (...) although the agents responsible for death modify the morphological sequences.' It is generally accepted that in any poisoning, 'the affected cells rapidly become ballooned out by the development of clear cytoplasmic vacuoles (...). The nuclei of these cells are displaced by the reactions known by the names of karyorrhexis, karyolysis and pycnosis. Some of these nuclear changes are reversible ; others denote cell death'.

Histopathological changes brought about by *B. thuringiensis* have been observed in several insects. Irregular swelling and distortion of microvilli of columnar and goblet cells (acidophil cells) of *Pieris brassicae* brought about by the endotoxin of *B. thuringiensis* have been noted by Ebersold *et al.* (1977). Endo and Nishiitsutsuji-Uwo (1980) have observed temporally sequential changes in the structure of the epithelial cells of silkworm treated with *B. thuringiensis* endotoxin ; the plasma membrane is the earliest affected part which protrudes as swellings ; pronounced hypertrophy and extreme vacuolation of cytoplasm have also been recorded by them. Percy and Fast (1983) have shown that the toxin produces bulbous eversions of the plasma membrane in the columnar cells of *B. mori*. The pathological changes seen in the histology and histochemistry of the midgut epithelium of silkworm treated with *B. t. i* have been discussed at length by Mathavan *et al.* (1989). These include changes in the structure of the plasma membrane such as disruption of microvilli and formation of eversions. In the present study, the cell membrane has been observed to blister at its free surface as eruptions or blebs. These are with or without distinct stalks. Blebbing is regarded as an index of cell membrane damage.



Scale line represents 50 μ m / Echelle à 50 μ m.

Abbreviations / Abréviations :

- ac : acidophil cell / cellule acidophile,
- bm : basement membrane / membrane basale,
- cc : columnar cell / cellule colonnaire,
- d : dictyosome / dictyosome,
- e : eversion / éversion,
- gl : glycogen / glycogène,

- l : lumen / lumen ou lumière,
- n : nucleus / noyau,
- nl : nucleolus / nucléole,
- pm : peritrophic membrane / membrane péritrophique,
- rc : regenerative cell / cellule régénératrice,
- sv : secretory vesicle / vésicule sécrétrice.

Fig. 1 : Low-power view of the midgut epithelium showing the types of cells.

The peritrophic membrane lining the epithelium is visible. Secretory vesicles pinched off the columnar cells are also found. Zenker ; Weigert's haematoxylin - Biebrich scarlet.

Fig. 1 : Vue au microscope photonique de l'épithélium de l'intestin montrant les différents types de cellules.

On distingue la membrane péritrophique recouvrant l'épithélium ainsi que les vésicules sécrétrices extraites des cellules colonnaires. Zenker ; hématoxyline de Weigert - Rouge de Biebrich.

Fig. 2 : Enlarged view showing a few columnar epithelial cells and a regenerative cell.

The cytoplasmic organelles such as mitochondria, dictyosomes and the nucleoli of the nucleus may be seen. Helly ; Heidenhain's iron - haematoxylin.

Fig. 2 : Agrandissement montrant quelques cellules épithéliales colonnaires et une cellule régénératrice.

On distingue les organites cytoplasmiques telles que les mitochondries, les dictyosomes ainsi que les nucléoles du noyau. Helly ; Fer d'Heidenhain - hématoxyline.

Fig. 3 : Epithelium of larva treated with 3 µg of toxin.

One of the columnar cells, seen in the centre of the micrograph, shows extreme hypertrophy which has changed it into an oval structure with an extremely large nucleus. Zenker ; Mallory's triple stain.

Fig. 3 : Epithélium d'une larve traitée avec 3 µg de toxine.

L'une des cellules colonnaires, au centre de la microphotographie, présente une hypertrophie qui l'a transformé en une structure ovale à gros noyau. Zenker ; coloration triple de Mallory.

Fig. 4 : Epithelium of larva treated with 3 µg of toxin.

Despite the presence of many folds of peritrophic membrane, the epithelial cells have lost their integrity and identity in a worm treated with 3 µm of toxin. Zenker ; Mallory's triple stain.

Fig. 4 : Epithélium d'une larve traitée avec 3 µg de toxine.

Malgré la présence de plusieurs plis de membrane péritrophique, les cellules épithéliales sont corrodées et perdent leur identité chez un ver traité avec 3 µm de toxine. Zenker ; coloration triple de Mallory.

Fig. 5 : Epithelium of larva treated with 5 µg of toxin.

See the corroded appearance of the free surface of the epithelium. A few eruptions of the plasma membrane are also clearly visible. Helly ; Mallory's triple stain.

Fig. 5 : Epithélium de larve traitée avec 5 µg de toxine.

On remarque que la surface libre de l'épithélium est corrodée ; quelques éruptions de la membrane plasmatique sont aussi clairement visibles. Helly ; coloration triple de Mallory.

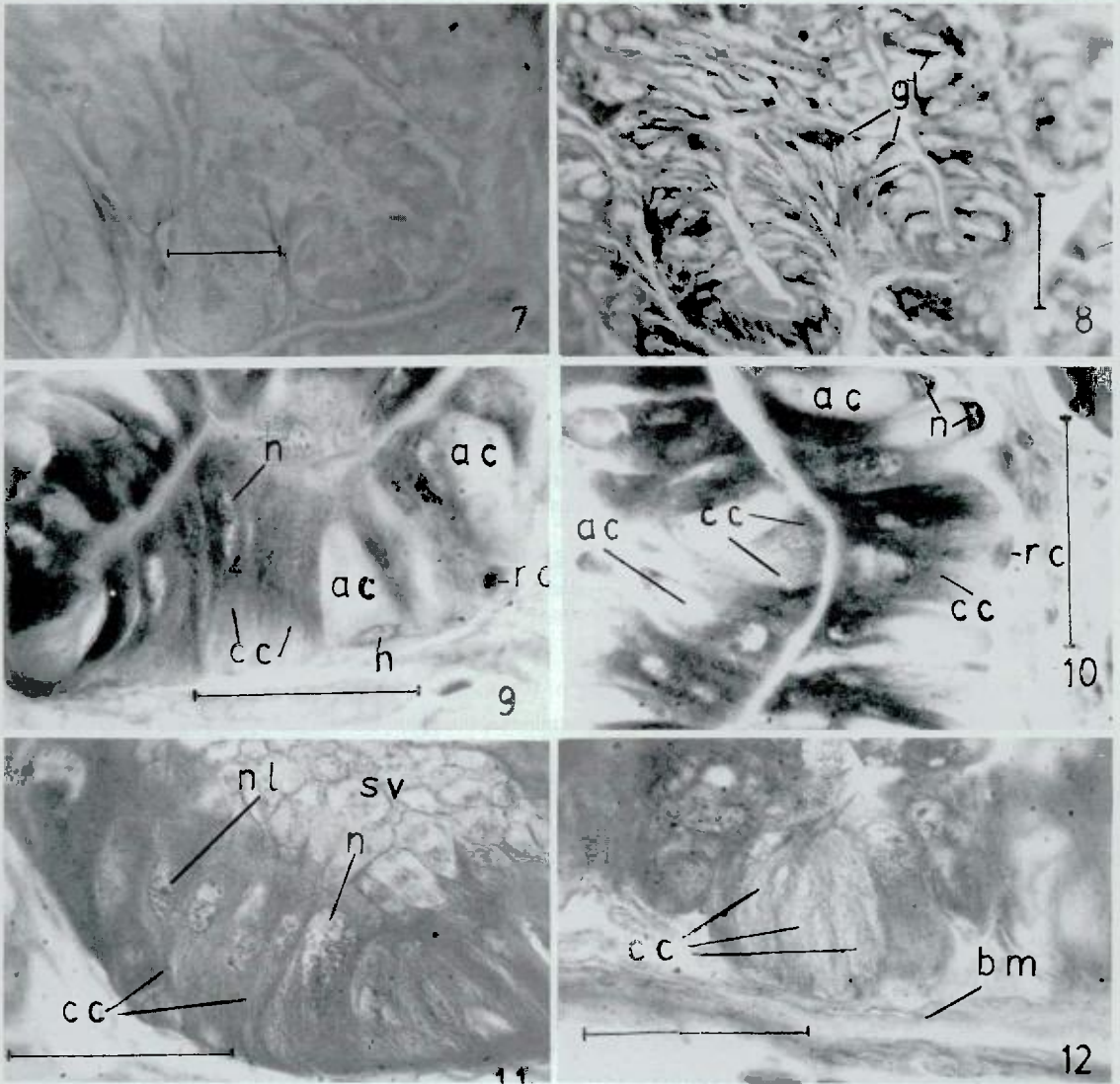
Fig. 6 : Epithelium of another larva treated with 5 µg of toxin.

Eversions from the columnar cells have pinched off as small blebs. The peritrophic membrane is intact. Helly ; Ehrlich's haematoxylin - Biebrich scarlet.

Fig. 6 : Epithélium d'une autre larve traitée avec 5 µg de toxine.

Des éversions des cellules colonnaires ont surgi comme des petits boutons. La membrane péritrophique est intacte. Helly ; hématoxyline d'Ehrlich - Rouge de Biebrich.

HISTOPATHOLOGY OF B. MORI MIDGUT EPITHELIUM



Scale line represents 50 μ m / Echelle à 50 μ m.

Abbreviations / Abréviations :

- ac : acidophil cell / cellule acidophile,
- bm : basement membrane / membrane basale,
- cc : columnar cell / cellule colonnaire,
- d : dictyosome / dictyosome,
- e : eversion / éversion,
- gl : glycogen / glycogène,

- l : lumen / lumen ou lumière,
- n : nucleus / noyau,
- nl : nucleolus / nucléole,
- pm : peritrophic membrane / membrane péritrophique,
- rc : regenerative cell / cellule régénératrice,
- sv : secretory vesicle / vésicule sécrétrice.

Fig. 7 : Epithelium showing diffuse glycogen in the cytoplasm of the columnar cells.

Note the absence of distinct glycogen granules in the control larva. Lillie ; PAS.

Fig. 7 : Epithélium montrant la diffusion du glycogène dans le cytoplasme des cellules colonnaires.

Noter l'absence de granules distincts de glycogène chez la larve témoin. Lillie ; PAS.

Fig. 8 : Infiltration of glycogen in the columnar cells of a larva treated with 5 µg of toxin.

See the rich accumulation of glycogen which is intensely positive to PAS reaction. Lillie ; PAS.

Fig. 8 : Infiltration de glycogène dans les cellules colonnaires de la larve traitée avec 5 µg de toxine.

On remarque l'accumulation riche en glycogène qui est tout à fait positive à la réaction PAS. Lillie ; PAS.

Fig. 9 : Epithelium of control stained for RNA.

Note the rich RNA content of the columnar cells and the absence of RNA in the cytoplasm of acidophil cell. The basal part of the columnar cells shows very little RNA. Zenker ; toluidine blue.

Fig. 9 : Epithélium du témoin coloré pour l'identification de l'ARN.

On remarque le contenu élevé en ARN des cellules colonnaires et l'absence d'ARN dans le cytoplasme de la cellule acidophile. La partie basale des cellules colonnaires ne possède que très peu d'ARN. Zenker ; bleu de toluidine.

Fig. 10 : Epithelium of larva treated with 5 µg of toxin.

A few affected columnar cells and some healthy columnar cells are shown. In the affected cells note the hypertrophy and loss of RNA. The regenerative cells have also become less basophil. Zenker ; toluidine blue.

Fig. 10 : Epithélium d'une larve traitée avec 5 µg de toxine.

On peut voir quelques cellules colonnaires infectées et quelques cellules colonnaires saines. On constate une hypertrophie et une perte d'ARN chez les cellules infectées. Les cellules régénératrices sont aussi moins basophiles. Zenker ; bleu de toluidine.

Fig. 11 : Epithelium of control show the rich content of protein in the columnar cells.

Note the irregular, large secretory vesicles containing protein (enzymes) Zenker ; acrolein - Schiff.

Fig. 11 : L'épithélium du témoin présente des cellules colonnaires riches en protéines.

On remarque les vésicules sécrétrices irrégulières et larges contenant les protéines (enzymes). Zenker ; acroléine Schiff.

Fig. 12 : Epithelium of larva treated with 5 µg of toxin.

Three columnar cells showing a decreased protein content can be seen. The nuclei have disintegrated. A few healthy columnar cells flank the affected cells. Zenker ; acrolein - Schiff.

Fig. 12 : Epithélium de larve traitée avec 5 µg de toxine.

On peut voir trois cellules colonnaires présentant une baisse du contenu en protéine. Le noyau est désintégré. Quelques cellules colonnaires saines flanquent les cellules infectées. Zenker ; acroléine - Schiff.

As a result of cell membrane damage, a loss of coenzymes and electrolyte movements take place and water accumulates intracellularly. This accumulation of water produces swelling of the cells and increase in their overall dimensions. This is usually described as hypertrophy which is, indeed the onset of cellular disintegration and necrosis. Chiang *et al.* (1986) in their study on rice moth infected by *B. thuringiensis* have seen such swelling and distortion of the epithelial cells that lead to their rupture at a later stage.

Percy and Fast (1983) reported hypertrophy of columnar cells in their ultrastructural studies on silkworm. The same phenomenon was recorded by Mathavan *et al.* (1989) in their light microscopic observations on silkworm. In the work presented here, the swelling of the columnar cells caused by *B. sphaericus* has been found to be so great that the cell acquires a more or less spherical or oval shape. Such an extent of damage has not been reported earlier in any of the organisms studied.

Cameron (1970) has emphasised most appropriately that the chemical approach in pathology has met with brilliant success in the case of glycogenic infiltration. We have been able to observe that the infiltration of glycogen has been many-fold in the cells affected by *B. sphaericus*.

Fast and Donaghue (1971) who have recorded the increase in glycogen content in larvae treated with *B. thuringiensis* consider that there is a stimulated uptake of glycogen by the affected cells. But, glycogen probably infiltrates passively into the injured cells rather than being actively absorbed by them.

Damage to the cells, caused by the pathogen, *B. sphaericus* includes thinning out of cytoplasm and the disappearance of basiphilia, destruction of the cytoplasmic organelles, karyorrhexis, pycnosis and karyolysis, and vacuolation. Vacuolation has been long known to the pathologists as an early effect of cell injury. Among them, Endo and Nishiitsutsuji-Uwo (1980) and Mathavan *et al.* (1989) emphasised vacuolation. As remarked by Cameron (1970), the dilatation of the ergastoplasmic sacs (endoplasmic reticulum) is the earliest and principal cause of pathological cell vacuolation.

The only histochemical study on normal and infected silkworm midgut appears to be that of Mathavan *et al.* (1989) : the present work also incorporates histochemical investigations. Besides the pronounced infiltration of glycogen, mentioned earlier, the other histochemical changes observed here include a decline in RNA content and the concomitant fall in protein synthesis.

B. sphaericus causes severe damage to the midgut cells ; the extent of decrease in RNA and protein content of the columnar cells are remarkable.

The present study confirms that the *B. sphaericus* toxin is harmful to beneficial insects, such as the silkworm. The use of *B. sphaericus* for field application for anti-mosquito measures should be judiciously considered in India where sericulture is an important industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

One of the authors (Dr S. Mathavan) is thankful to CSIR for financial assistance through a research project (No. 38(740)/88/EMR-II).

REFERENCES

- ANGUS T. A., HEIMPEL A. (1956), An effect of *Bacillus sotto* on the larvae of *Bombyx mori*. *Canad. Entomol.*, 88, 138-139.
- ARONSON A. I., BECKMAN W., DUNN P. (1986), *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiol. Rev.*, 50, 1, 1-24.
- BAUMANN P., UNDERMAN B. M., BAUMANN L., BROADWELL A. H., ABBENE S. J., BOWDITCH R. D. (1985), Purification of the larvicidal toxin of *Bacillus sphaericus* and evidence for high molecular weight precursors. *J. Bacteriol.*, 163, 738-747.
- CAMERON, SIR ROY (1970), Pathological changes in cells in cytology and cell physiology (Ed. G. H. Bourne). Academic Press, London.
- CHIANG A. S., YEN D. F., PENG W. K. (1986), Defense reaction of midgut epithelial cells in the rice moth larva (*Corcyra cephalonica*) injected with *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 47, 333-339.

- DAVIDSON E. W. (1983), Alkaline extraction of toxin from spores of the mosquito pathogen, *Bacillus sphaericus*. Can. J. Microbiol., 29, 271-275.
- DRURY R.A.B., WALLINGTON E. A. (1967), Carleton's histological technique (IV Edn.). Oxford University press.
- EBERSOLD H. R., LUTHY P., MULLER M. (1977), Changes in the fine structure of the gut epithelium of *Pieris brassicae* induced by the δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. Bull. Soc. Ent. Suisse, 50, 269-276.
- ENDO Y., NISHITSUTSUJI-UWOJ. (1980), Mode of action of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin. Histopathological changes in the silkworm midgut. J. Invertebr. Pathol., 36, 90-103.
- FAST P. G., DONAGHUE T. P. (1971), The δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. II. On the mode of action. J. Invertebr. Pathol., 18, 135-138.
- FAST P. G., MURPHY D. W., SOHI S. S. (1978), *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin : evidence that toxin acts at the surface of susceptible cells. Experientia., 34, 762-763.
- GRIEGO V. M., MOFFETT D., SPENCE K. D. (1979), Inhibition of active K^+ transport in the tobacco hornworm (*Manduca sexta*) midgut after ingestion of *Bacillus thuringiensis* endotoxin. J. Insect Physiol., 25, 283-288.
- HARVEY W. R., WOLFERSBERGER M. G. (1979), Mechanism of inhibition of active potassium transport in isolated midgut of *Manduca sexta* by *Bacillus thuringiensis* endotoxin. J. Exp. Biol., 83, 293-304.
- HOFTE H., WHITELEY H. R. (1989), Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol. Rev., 53 (4), 242-255.
- HUBER H.E., LUTHY P. (1981), *Bacillus thuringiensis* delta endotoxin : composition and activation. In E. W. Davidson (ed.) Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases. Allenheld, Osmun publishers, Totowa, N. J., 209-234.
- JEYARAMAN K., SUBRAMANIAN R., JAMUNA R., KAMDAR H. (1980), Some preliminary observations on the formation of larvicidal factors by *Bacillus sphaericus* strains active against the mosquito of South India. Who/VBR, 80-794.
- KNOWLES B. H., THOMAS W. E., ELLAR D. J. (1984), Lectin-like binding of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* lepidopteran-specific toxin is an initial step in insecticidal action. FEBS Microbiol. Lett., 168, 197-202.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J. (1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265.
- MATHAVAN S., VELPANDI A. (1984), Toxicity of *Bacillus sphaericus* strains to selected target and non-target aquatic organisms. Ind. J. Med. Res., 80, 653-657.
- MATHAVAN S., VELPANDI A., JOHNSON J. C. (1987), Subtoxic effects of *Bacillus sphaericus* 1593M on feeding, growth and reproduction of *Laccotrephes griseus*. Exp. Biol., 46, 149-153.
- MATHAVAN S., SUDHA P. M., PETHIMUTHU S. M. (1989), Effect of *Bacillus thuringiensis israelensis* on the midgut of *Bombyx mori* larvae : a histochemical and histopathological study. J. Invertebr. Pathol., 53, 217-227.
- PERCY J. and FAST G. P. (1983), *Bacillus thuringiensis* crystal toxin : Ultrastructural studies of its effect on silkworm midgut cells. J. Invertebr. Pathol., 41, 86-98.
- VELPANDI A. (1988), Effect of biocides from *Bacillus sphaericus* on non target aquatic insects. Ph. D. Thesis, Madurai Kamaraj University, Madurai, India.

ETUDES HISTOCHIMIQUES ET HISTOPATHOLOGIQUES DE L'EPITHELIUM DE L'INTESTIN MOYEN DES LARVES DE *BOMBYX MORI* INFESTEES PAR *BACILLUS SPHAERICUS*

S. MATHAVAN*, P.M. SUDHA* & Sm. P. MUTHU**

* School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, Inde.

** Department of Biology, Sri Paramakalyani College, Alwarkurichi 627 412, Inde.

Les larves de ver à soie nourries avec le biocide de B. sphaericus présentent des modifications histopathologiques et histochimiques au niveau de l'épithélium de l'intestin moyen. On a ainsi observé les effets suivants : hypertrophie des cellules, boursoufflage de la membrane plasmique, rupture des microvillosités, perte de basophilie cytoplasmique causée par la diminution de l'ARN, diminution de la synthèse protéique, vacuolisation, destruction des organites cytoplasmiques, altérations irréversibles du noyau entraînant la nécrose et infiltration de glycogène. Comme les autres toxines de Bacillus, la toxine de B. sphaericus affecte les cellules épithéliales de contact de l'intestin moyen en modifiant la perméabilité et en perturbant l'équilibre électrolytique et les processus consécutifs.

INTRODUCTION

Bacillus sphaericus est une bactérie sporogène ; les cellules sporulantes et les spores matures synthétisées par *B. sphaericus* sont toxiques pour les insectes, en particulier pour les larves de moustique (Jayaraman et coll., 1980 ; Mathavan et Velpandi, 1984). La toxine est dénommée "biocide" et on envisage de l'utiliser sur le terrain dans la lutte contre l'insecte-cible, à savoir les larves de moustiques. Cependant, il a été démontré que des concentrations sub-toxiques du biocide des souches 2362 et 1593 de *B. sphaericus* avaient des effets nuisibles sur les insectes aquatiques non ciblés (Mathavan et coll., 1987 ; Velpandi, 1988). Les espèces de *Bacillus* comme *B. thuringiensis* et *B. sotto* sont pathogènes pour les larves de *B. mori*. Les effets histochimiques et histopathologiques de ces agents pathogènes ont été démontrés (Angus et Heimpel, 1956 ; Endo et Nishiitsutsuji Uwo, 1980 ; Mathavan et coll., 1989). Le mode d'action des sous-espèces de *B. thuringiensis* a été étudié de manière approfondie au cours des deux dernières décennies. Parmi les bacilles sporogènes, *B. sphaericus* produit des protoxines pendant la sporulation et ces protéines sont déposées sur la surface de la spore. Quand la spore est ingérée par des larves sensibles (c'est-à-dire un lépidoptère ou un diptère), la protoxine est solubilisée par l'environnement alcalin de l'intestin moyen. L'intestin moyen de ces larves contient également des protéases nécessaires à la conversion des protoxines en toxines et peut-être des récepteurs sur la surface des cellules épithéliales de l'intestin moyen auxquels se lieraient les toxines (ou protoxines) pour initialiser leur action (Fast et coll., 1978 ; Huber et Luthy, 1981 ; Davidson, 1983 ; Knowles et coll., 1984 ; Aronson et coll., 1986 ; Hofte et Whiteley, 1989). Les travaux de Harvey et Wolfersberger (1979) ont permis de démontrer que la toxine inhibe de manière spécifique une pompe à potassium située dans la membrane plasmique des cellules épithéliales de l'intestin moyen.

La toxine de *Bacillus sphaericus* donne un large spectre de polypeptides extractibles des spores et des cultures sporulantes comprenant une protéine de 43 kDa qui est issue d'un précurseur de plus de 100 kDa (Baumann et coll., 1985). Cependant, les effets pathogènes de *B. sphaericus* sur les larves

de *B. mori* n'ont jamais été étudiés ; le présent article est le premier rapport fait dans ce domaine. Ce travail a été entrepris pour la raison suivante : l'utilisation sur le terrain du biocide de *B. sphaericus* pour lutter contre les larves de moustique pourrait entraîner une infestation éventuelle de *B. mori*. Il devient donc nécessaire de connaître la pathogénicité de *B. sphaericus* sur les larves de ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

La souche 2362 de *B. sphaericus* est cultivée sur un bouillon nutritif à température ambiante dans un agitateur rotatif. Avec un inoculum d'un dixième (le volume de culture est 10 fois supérieur à celui de la préculture à inoculer), la culture entre en phase stationnaire en 24 heures. La culture est centrifugée à 5 000 tours par minute pendant 20 minutes et les cellules sont ensuite prélevées. Le culot contient un nombre maximum de spores matures et quelques cellules sporulantes ; il est suspendu dans une solution saline à 0,85 % (0,85 g de NaCl dans 100 ml d'eau) et congelé en vue de la présente étude. Les quantités de protéines présentes (mg/ml) dans la suspension sont évaluées selon la méthode de Lowry et coll. (1951).

Traitement :

Le biocide est introduit dans les larves de ver à soie d'après la procédure suivante : des concentrations déterminées (μg protéines/ml) de toxine de *B. sphaericus* sont fournies à des larves du cinquième âge par nourrissage forcé à l'aide d'une microseringue (seringue d'Hamilton - capacité de 10 μl). La concentration protéique de la suspension bactérienne de *B. sphaericus* est de 6 000 $\mu\text{g/ml}$.

Pour l'expérience, les larves sont gavées avec des suspensions bactériennes contenant 5 μg , 3 μg et 1 $\mu\text{g/ml}$ de protéines. L'effet de la toxine est étudiée 24 heures après le traitement. Pour chacune de ces concentrations, un lot de 15 larves est utilisé.

Les larves témoins sont traitées avec les quantités appropriées d'une solution saline normale. Les intestins moyens sont prélevés pour permettre les comparaisons.

Etudes histochimiques et histopathologiques :

Les tissus de l'intestin moyen sont fixés dans les fixateurs de Zenker, de Helly, de Clarke et de Lillie pour les études histopathologiques. Après déshydratation, ils sont nettoyés et enrobés dans de la paraffine celloïdine suivant la méthode de Peterfi (Drury et Wallington, 1967). Des coupes de 7 μm d'épaisseur sont colorées par des combinaisons monochromes, bichromes et trichomes. Pour les études histochimiques, les tissus sont traités de la même façon et les coupes de 7 μm sont colorées dans du bleu de toluidine (avec ou sans digestion préalable par la RNase) pour mettre en évidence l'ARN, dans de la pyronine-vert de malachite pour l'ADN et l'ARN et dans du bleu alcien pour le mucus, le réactif de Schiff étant utilisé pour détecter les protéines et le PAS pour détecter les hydrates de carbone. Le détail des méthodes est présenté dans l'article de Mathavan et coll. (1989).

RESULTATS

Ainsi qu'il a déjà été observé (Mathavan et coll., 1989), l'épithélium de l'intestin moyen de *B. mori* est composé de trois sortes de cellules : les cellules colonnaires, les cellules calciformes et les cellules en régénération. L'épithélium est protégé par une membrane péritrophique qui tapisse la lumière de l'intestin moyen (Fig. 1, Fig. 2). La toxine pénètre dans la membrane péritrophique et endommage les cellules épithéliales. Les changements observés dans les cellules de l'intestin moyen des larves traitées avec différentes concentrations de toxine sont présentés ci-dessous.

Larves traitées avec 1 μg de toxine pendant 24 heures :

L'épithélium est apparemment sain et normal. Il y a peu de modifications pathologiques, seules quelques cellules présentent une hypertrophie. Les cellules colonnaires grossissent et leurs noyaux s'enflent également ; on remarque de larges vacuoles, apparemment vides, dans les cellules acidophiles. Il n'y a aucun changement notable au pôle distal des cellules. Au niveau histochimique, il y a une très légère diminution de l'ARN et des protéines dans les cellules affectées.

Larves traitées avec 3 µg de toxine pendant 24 heures :

Davantage de cellules de l'épithélium sont affectées. Les cellules colonnaires et les cellules acidophiles présentent une hypertrophie prononcée. On remarque également quelques cellules saines au milieu. Chez l'une des larves, une cellule colonnaire a subi une hypertrophie maximale et est devenue de ce fait pratiquement sphérique avec un noyau extrêmement grand et oval (Fig. 3). Les cellules colonnaires perdent leur organisation structurale, le cytoplasme devient transparent, la région apicale prend la forme d'un dôme ; chez certaines cellules, cette région se lyse et la cellule se disloque. Tous ces phénomènes se produisent malgré la présence des nombreuses couches en feuillet de la membrane péritrophique (Fig. 4). Le contenu en ARN et le contenu en protéines de la cellule diminuent de façon significative.

Larves traitées avec 5 µg de toxine pendant 24 heures :

L'épithélium présente des changements pathologiques radicaux : la surface libre des cellules colonnaires où se trouvent les microvillosités est rompue et corrodée. L'hypertrophie des cellules épithéliales est à son maximum. Une éruption de vésicules petites et moyennes apparaît sur la membrane plasmique. Certaines de celles-ci ont de longues tiges étroites par lesquelles elles s'attachent aux cellules (Fig. 5, 6). Un grand nombre de ces évaginations sont petites et parfaitement sphériques. La vacuolisation des cellules acidophiles est remarquable. Des morceaux des cellules colonnaires et acidophiles se détachent de l'épithélium et tombent dans la lumière où ils subissent une lyse. La fragmentation de la chromatine (caryorrhexie) est une caractéristique commune des cellules affectées. Comme le montre la Fig. 12, les noyaux des cellules colonnaires se désintègrent complètement et il est très difficile d'identifier les noyaux de telles cellules ; la nécrose de la cellule et du noyau se produit quand ils sont traités avec cette concentration de toxine. Parallèlement à l'hypertrophie et à la transformation du cytoplasme en substance hyalène, le contenu en ARN des cellules colonnaires diminue fortement (Fig. 10). La comparaison avec l'épithélium de l'intestin normal (Fig. 9) montre l'étendu de la perte d'ARN dans la cellule traitée. La cellule de régénération présente également une diminution du contenu en ARN. La Fig. 11 montre l'abondance des protéines dans les cellules épithéliales, en particulier dans les cellules colonnaires. La Fig. 12 indique que la chute du contenu en protéines des cellules colonnaires est due au traitement par *B. sphaericus*.

L'effet de *B. sphaericus* sur l'épithélium est frappant en ce qui concerne l'ingestion de glycogène. La comparaison des Fig. 7 et 8 permet de mettre en évidence les différences du contenu en glycogène. Chez l'animal traité, les cellules colonnaires sont très riches en glycogène ; en fait, le cytoplasme est surchargé de glycogène comme le montre la forte intensité de la réaction positive au PAS. Il faut également mentionner l'absence totale de mucocytes ou de mucopolysaccharides dans l'épithélium.

DISCUSSION

Il existe de nombreuses lacunes dans notre connaissance de la pathologie cellulaire bien que plusieurs études aient été faites au microscope optique et au microscope électronique. Un plus grand nombre d'études doivent être effectuées afin de rendre exhaustive la connaissance des processus intervenant dans la cytopathologie et la cytochimie des cellules endommagées par des agents pathogènes.

Cameron (1970) résume le phénomène de la manière suivante : "toutes les cellules mourantes traversent les mêmes stades (...) bien que les agents léthaux modifient les séquences morphologiques". Il est généralement admis que, pour tout empoisonnement, "les cellules infestées sont rapidement ballonnées par le développement de vacuoles cytoplasmiques claires (...). Les noyaux de ces cellules sont déplacés par des réactions connues sous les noms de caryorrhexie, caryolyse et pycnose. Certaines de ces modifications du noyau sont réversibles, d'autres dénotent la mort de la cellule".

Les changements histopathologiques provoqués par *B. thuringiensis* ont été observés chez plusieurs insectes. Le gonflement irrégulier et la distorsion des cellules colonnaires et calciformes (cellules acidophiles) de *Pieris brassicae* provoqués par l'endotoxine de *B. thuringiensis* ont été remarqués par Ebersold et coll. (1977). Endo et Nishiitsutsuji-Uwo (1980) ont observé des

changements séquentiels temporaires de la structure des cellules épithéliales du ver à soie traité avec l'endotoxine de *B. thuringiensis* : la membrane plasmatique est la première à montrer une affection sous la forme de boursofflures. Ces auteurs ont également noté l'hypertrophie marquée et la vacuolisation extrême du cytoplasme. Percy et Fast (1983) ont montré que la toxine produit des éversions bulbeuses de la membrane plasmatique dans les cellules colonnaires de *Bombyx mori*. Les changements pathologiques observés dans l'histopathologie et l'histochimie de l'épithélium de l'intestin moyen du ver à soie traité avec du *B.t.i.* ont été discutés de manière approfondie par Mathavan et coll. (1989). Ceux-ci comprennent les modifications de la structure de la membrane plasmatique, telles que la rupture des microvillosités et la formation d'éversions. Dans la présente étude, on observe que la membrane cellulaire se cloque sur la surface libre et fait apparaître des éruptions ou des boursofflures. Celles-ci peuvent avoir des pédoncules distincts ou non. Le boursofflage est considéré comme l'indice d'endommagement de la membrane cellulaire.

L'endommagement de la membrane cellulaire se traduit par la perte des coenzymes et la mise en route des mouvements électrolytiques qui conduisent à l'accumulation intracellulaire d'eau. Cette accumulation d'eau provoque le gonflement des cellules et augmente leurs dimensions globales. Ceci est généralement décrit sous le nom d'hypertrophie, laquelle marque, en effet, le début de la désintégration cellulaire et la nécrose. Chiang et coll. (1986) dans leur étude sur l'infestation de la mite du riz par *B. thuringiensis* ont observé un boursofflage et une distorsion identique des cellules épithéliales conduisant à leur rupture à un stade ultérieur.

Percy et Fast (1983) ont noté une hypertrophie des cellules colonnaires dans leurs études ultrastructurelles sur le ver à soie. Le même phénomène a été noté par Mathavan et coll. (1989) dans leurs observations au microscope optique. Dans les travaux présentés ici, on remarque que le gonflement des cellules colonnaires causé par *B. sphaericus* est tel que la cellule acquiert une forme plus ou moins sphérique ou ovale. Une telle étendue du dommage n'a été décrite antérieurement chez aucun des organismes étudiés.

Cameron (1970) a souligné très justement que l'approche chimique en pathologie a permis d'obtenir des résultats brillants dans le cas de l'infiltration du glycogène. Nous avons pu observer que l'infiltration du glycogène se multiplie dans les cellules infestées par *B. sphaericus*. Fast et Donaghue (1971), qui ont relevé une augmentation du contenu en glycogène des larves traitées avec *B. thuringiensis*, considèrent que l'ingestion du glycogène est stimulé par les cellules infestées. Mais il est probable que le glycogène s'infiltre de manière passive dans les cellules endommagées plus qu'il n'est absorbé activement par elles.

Le dommage cellulaire causé par l'agent pathogène *B. thuringiensis* comprend le désépaississement du cytoplasme et la disparition de la basale, la destruction des organites cytoplasmiques, la caryorrhexie, la pycnose et la nucléolyse ainsi que la vacuolisation. La vacuolisation est connue depuis longtemps des pathologistes comme l'effet précoce du dommage cellulaire. Parmi eux, Endo et Nishiitsutsuji-Uwo (1980) et Mathavan et coll. (1989) ont souligné la vacuolisation. Comme l'a remarqué Cameron (1970), la dilatation des poches ergatoplasmiques (réticulum endoplasmique) est la cause première et principale de la vacuolisation pathologique des cellules.

Il apparaît que la seule étude histochimique sur l'intestin normal et infesté de ver à soie est celle de Mathavan et coll. (1989) : les présents travaux incluent également des investigations histochimiques. Outre l'infiltration prononcée de glycogène mentionnée plus haut, les autres modifications histochimiques observées ici comprennent la réduction du contenu en ARN et la chute concomitante de la synthèse protéique.

B. sphaericus cause de sérieux dommages aux cellules de l'intestin moyen ; l'ampleur de la diminution des contenus en ARN et en protéines des cellules colonnaires est remarquable.

La présente étude confirme que la toxine de *B. sphaericus* est nocive pour les insectes d'intérêt économique comme le ver à soie. L'utilisation de *B. sphaericus* sur le terrain pour la lutte contre les moustiques doit être envisagée avec prudence en Inde où la sériciculture est une industrie importante.

RELATIVE SUSCEPTIBILITY OF DIFFERENT RACES OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., TO NUCLEAR POLYHEDROSIS UNDER NATURAL AND INDUCED CONDITIONS

M. BAIG, S.D. SHARMA, M. BALAVENKATASUBBAIAH, M.V. SAMSON,
T.O. SASHIDHARAN & M.K.R. NOAMANI

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

Twenty-one races (Pure, foundation stock of polyhybrids and their hybrids) of silkworm, viz., NB7, NB18, NB4D2, NB3C1, NB2D1, KA, M5, PM, EG, DF, CA, CB, NB18 × NB7, NB7 × NB18, CA × EG, PM × NB7, PM × NB18, PM × CA, PM × EG, PM × CB, and PM × DF, were screened for their relative susceptibility to nuclear polyhedrosis under natural and induced conditions. Both under natural and induced conditions, the bivoltine races were found to be comparatively more susceptible than the multivoltine races. However, in induced conditions, all the races were susceptible to grasserie (NP) but the degree of susceptibility varied considerably. Under natural conditions, the highest incidence of nuclear polyhedrosis (6.33 %) was recorded in DF and nil in PM × NB18. Under induced conditions the most susceptible race was NB2D1 with 68.667 % grasserie and the lowest in PM with 18.5 % incidence. The hybrids of even susceptible parents showed improvement in their resistance to nuclear polyhedrosis.

Keywords : *Bombyx mori* L., susceptibility, races, nuclear polyhedrosis.

INTRODUCTION

Different races of silkworm exhibit marked variation in their susceptibility to various diseases (Liu Shi Xian, 1984). Some preliminary screening of multivoltine × bivoltine hybrids for their comparative rearing performance was conducted by Tikoo *et al.* (1971) and pure races by Krishnaswamy and Tikoo (1971). In general, all the early workers have established superiority of bivoltine exotic races over those of local multivoltine races in rearing performance. However, no serious attempts have been made to systematically screen different pure and foundation stocks of polyhybrids and their hybrids for their relative susceptibility to nuclear polyhedrosis which is one of the major causes of cocoon crop failure in India. Keeping in view of this lacuna, the present study was undertaken to find out a few relatively resistant races among the races available today.

MATERIAL AND METHODS

Eight pure races, viz. NB7, NB18, NB4D2, NB3C1, NB2D1, KA, M5 and PM, four foundation stocks of polyhybrids, viz. EG, DF, CA and CB and their respective hybrid races, viz. NB18 × NB7, NB7 × NB18, CA × EG, PM × NB7, PM × NB18, PM × CA, PM × EG, PM × CB and PM × DF were procured from bivoltine and multivoltine breeding laboratories of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, and reared as per the methods described by Krishnaswamy (1971). At the time of first feeding during the IV stage, the experiment was divided into two sets. One set was reared without any artificial induction of nuclear polyhedrosis whereas the other set was orally inoculated

with a fixed load of polyhedra (7×10^6 polyhedra/ml) by smearing 0.25 ml of polyhedral suspension on a leaf disc of an area of 46.6 sq. cm. Eight such leaf discs were fed to 200 larvae of each replication. In all, four replications were maintained for each race. Rearing was continued in both experimental sets upto spinning stage, observations on the incidence of nuclear polyhedrosis and other diseases were recorded. The cocoon yield was assessed and presented in tables I and II.

RESULTS AND DISCUSSION

The detailed data on the effective rate of rearing and per cent incidence of grasserie and flacherie in both normal and inoculated batches is furnished in tables I and II.

Table I. Per cent incidence of diseases and number of cocoons harvested in natural (Batch I) and artificially induced batches (Batch II) of pure and foundation cross of polyhybrid races of the silkworm.

Tableau I. Pourcentage d'incidence de certaines maladies et nombre de cocons récoltés sur des lots naturels (Lot I) et induits (Lot II) obtenus à partir de races pures et de croisements de races de base pour les croisements polyhybrides du ver à soie.

Sl. no.	Race	Number of cocoons harvested		% of diseases			
		Batch I	Batch II	Grasserie		Flacherie	
N ^o de série	Race	Nombre de cocons récoltés		Pourcentage des maladies			
		Lot I	Lot II	Grasserie		Flacherie	
				Lot I	Lot II	Lot I	Lot II

1	NB7	89.334	39.834	4.333	56.333	6.333	3.833
2	NB18	79.667	50.667	1.666	45.333	18.667	4.000
3	NB4D2	94.500	46.167	2.667	48.666	1.167	5.167
4	NB3C1	92.333	37.833	5.000	55.667	2.000	6.500
5	NB2D1	95.833	26.500	2.500	68.667	1.667	4.833
6	KA	94.667	54.333	4.167	39.500	1.167	9.500
7	M5	79.667	46.333	2.333	52.000	18.000	1.667
8	Pure Mysore	95.667	80.667	0.333	18.500	4.000	0.833
9	EG	87.000	45.167	1.333	45.500	11.667	9.333
10	DF	92.000	51.167	6.333	46.500	1.667	2.333
11	CA	94.333	41.000	4.333	54.500	1.333	4.500
12	CB	93.000	36.667	5.833	57.333	1.167	6.000
	S.E. / Ecart type	1.120	1.584	0.727	1.029	NS	0.805
	C.D. at 5 %	3.168	4.480	2.058	2.910		2.277

The data show that among normal batches, the lowest incidence of grasserie (0.333 %) was recorded in PM and the highest (6.33 %) in DF. Another race which showed high grasserie incidence was NB₃C₁ (5.00 %). Among the popularly used bivoltine races NB₇ was the most susceptible with 4.33 % grasserie. NB₁₈ was relatively resistant with only 1.66 % incidence followed by NB₄D₂ (2.667 %).

Table II. Per cent incidence of diseases and number of cocoons harvested in natural (Batch I) and artificially induced batches (Batch II) of hybrid races of the silkworm.

Tableau II. Pourcentage d'incidence des maladies et nombre de cocons récoltés sur des lots naturels (Lot I) et induits (Lot II) obtenus à partir de souches hybrides du ver à soie.

Sl. no.	Race	Number of cocoons harvested		% of diseases			
		Batch I	Batch II	Grasserie		Flacherie	
N ^o de série	Race	Nombre de cocons récoltés		Pourcentage des maladies			
		Lot I	Lot II	Batch I	Batch II	Batch I	Batch II
				Grasserie		Flacherie	
				Lot I	Lot II	Lot I	Lot II
1	NB ₁₈ × NB ₇	96.00	36.000	3.000	53.000	1.000	11.000
2	NB ₇ × NB ₁₈	94.833	38.667	4.500	42.000	0.667	9.333
3	CA × EG	93.333	49.667	5.500	43.333	1.167	7.000
4	PM × NB ₇	94.000	72.500	0.333	24.500	5.667	3.000
5	PM × NB ₁₈	94.667	66.500	0.000	30.833	5.333	2.667
6	PM × CA	93.333	69.167	1.000	25.833	5.667	5.000
7	PM × EG	90.000	71.333	1.333	26.500	8.667	2.167
8	PM × CB	95.667	55.000	0.333	33.167	4.000	8.500
9	PM × DF	91.333	65.833	0.667	31.667	8.000	2.500
	S.E. / <i>Ecart type</i>	1.331	0.620	0.976	0.460	NS	0.478
	C.D. at 5 %	3.806	1.790	2.790	1.315		1.366

In the batch orally inoculated with polyhedral suspension (batch II) a more or less similar trend was observed. The highest incidence of grasserie (68.667 %) was recorded in NB₂D₁ followed by CB (57.33 %), NB₇ (56.334 %), NB₃C₁ (55.66 %), CA (54.50 %), M₅ (52.00 %), NB₄D₂ (48.66 %), DF (46.50 %), EG (45.50 %), NB₁₈ (45.33 %), KA (39.50 %) and the lowest (18.50 %) in PM.

Observations were also recorded on the incidence of flacherie in all the races. In normally reared batches high incidence of flacherie was noticed in NB₁₈ (18.667 %), followed by M₅ (18.00 %) and EG (11.67 %). In the other races the incidence of flacherie was comparatively low and ranged between 1.167 % and 6.33 %. In the treated batches the incidence of flacherie varied from 0.533 % in PM to 9.50 % in KA.

The hybrid races (Table II) without any induction of diseases showed a comparatively high yield of cocoons which ranged between 90.00 % and 96.00 %. PM $\times$ NB₁₈ did not show any incidence of nuclear polyhedrosis. PM $\times$ NB₇ and PM $\times$ CB showed 0.33 % each. The highest incidence of grasserie (5.50 %) was recorded in CA $\times$ EG followed by NB₇ $\times$ NB₁₈ (4.50 %), NB₁₈ $\times$ NB₇ (3.00 %) and PM $\times$ EG (1.33 %).

In the batches where nuclear polyhedrosis was artificially induced, the highest grasserie (53.00 %) was recorded in NB₁₈ $\times$ NB₇ followed by CA $\times$ EG (43.33 %). In the other hybrid combinations, the incidence of grasserie ranged between 24.50 % and 33.16 %, the lowest being in PM $\times$ NB₇.

With regard to flacherie in normal batches, the highest flacherie was recorded in NB₁₈ (18.667 %) closely followed by M₅ (18.00 %) and EG (11.66 %). On an average the hybrid combinations showed a low incidence of flacherie when compared with pure races. In the nuclear polyhedrosis induced batches flacherie was comparatively lower and a greater part of the mortality was due to nuclear polyhedrosis.

Critical analysis of the data suggests that the multivoltine races show better resistance than bivoltine races and also that the hybrids exhibit greater resistance than the individual parent races. The results of this investigation also clearly show that PM and its combination with bivoltine races are quite resistant to nuclear polyhedrosis. Chinnaswamy and Devaiah (1984) have also reported high resistance of PM over bivoltine races to aspergillois infection. The results of many breeding experiments with plants and animals including silkworms proved the superiority of hybrid combinations over the parents in quantitative traits (Sengupta *et al.*, 1971). This study thus highlights the need for systematic breeding experimentation to evolve disease resistant races.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thankfully acknowledge the help of Mrs Kshama Giridhar, SRO, in statistically analysing the data.

REFERENCES

- CHINNASWAMY K.P., DEVAIAH M.C. (1984), Susceptibility of different races of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus to aspergillois caused by *Aspergillus tamarii* Kata. *Sericologia*, 24, 513-517.
- KRISHNASWAMY S., TIKOO B.L. (1971), A comparative study of the performance of pure races currently under rearing in Mysore State. *Indian J. Seric.*, 10, 66-70.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYAN S.K., KUMARAJ S. (1973), *Sericulture manual 2 - Silkworm rearing*. FAO Agricultural Services Bulletin, 15, 1-128.
- TIKOO B.L., KAPILA M.L., KRISHNASWAMY S. (1971), Large-scale trials on the comparative performance of multivoltine $\times$ bivoltine hybrids of mulberry silkworm in Mysore State. *Indian J. Seric.*, 10, 57-65.
- LIU SHI XIAN (1984), Identification on the resistance of silkworm (*Bombyx mori*) races to six types of silkworm diseases. *Sericologia*, 24, 377-382.
- SENGUPTA K., DATTA R.K., BISWAS S.N., SINGH B.D. (1971), Studies on the heterosis in multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) 1. Yield performance of F₁ hybrids of Nistari and four evolved multivoltine breeds. *Indian J. Seric.*, 10, 6-13.

SENSIBILITE RELATIVE DE DIFFERENTES RACES DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. A LA POLYEDROSE NUCLEAIRE DANS DES CONDITIONS NATURELLES ET INDUITES

M. BAIG, S.D. SHARMA, M. BALAVENKATASUBBIAH, M.V. SAMSON,
T.O. SASHIDHARAN & M.R. NOAMANI

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

Vingt-et-une races (Pures, polyhybrides et leurs hybrides) de vers à soie, à savoir : NB7, NB18, NB4D2, NB3D1, KA, M5, PM, EG, DF, CA, CB, NB18 × NB7, NB7 × NB18, CA × EG, PM × NB7, PM × NB18, PM × CA, PM × EG, PM × CB et PM × DF, ont été examinées en fonction de leur sensibilité relative à la polyédrose nucléaire dans des conduites naturelles et induites. Dans les deux cas, les races bivoltines ont montré une plus grande sensibilité par rapport aux races multivoltines. Néanmoins, dans des conditions induites, toutes les races sont sensibles à la grasserie (NP) mais le degré de sensibilité varie considérablement. Dans des conditions naturelles, le taux le plus élevé de polyédrose nucléaire (6,33 %) est enregistré avec DF et il est nul avec PM × NB18. Dans des conditions induites, on constate que la sensibilité la plus élevée est observée chez NB2D1, la grasserie atteignant les 68,67 %, le taux le plus bas (18,5 %) est enregistré chez PM. Les hybrides, y compris ceux obtenus à partir de parents sensibles, possèdent une résistance accrue à la polyédrose nucléaire.

INTRODUCTION

Différentes races de vers à soie montrent des variations marquées de leur sensibilité aux diverses maladies (Liu, 1984). Des tests préliminaires ont été réalisés par Tikoo et coll. (1971) afin d'étudier la performance d'élevage des hybrides polyvoltins × bivoltins, Krishnaswamy et Tikoo (1971) ayant effectué le même travail sur des races pures. En général, tous les premiers chercheurs ont démontré la supériorité des races exotiques bivoltines sur les races multivoltines locales en ce qui concerne la performance d'élevage. Néanmoins, aucune étude n'a été réalisée pour examiner systématiquement la sensibilité relative des différentes races pures et leurs hybrides à la polyédrose nucléaire qui est une des causes majeures des pertes de récolte de cocons en Inde. En tenant compte de cette lacune, cette étude a été réalisée afin de trouver des races résistantes parmi les races utilisables aujourd'hui.

MATERIELS ET METHODES

Huit races pures, à savoir : NB7, NB18, NB4D2, NB3C1, NB2D1, KA, M5 et PM, quatre races de base pour les polyhybrides provenant du stock de la Fondation, à savoir : EG, DF, CA et CB et leurs hybrides respectifs, à savoir : NB18 × NB7, NB7 × NB18, CA × EG, PM × DF, ont été obtenues des laboratoires de sélection de bivoltins et multivoltins du Central Research & Training Institute de Mysore et élevées d'après la méthode décrite par Krishnaswamy (1971). Au cours du premier nourrissage du 4^{ème} âge, le matériel d'expérimentation a été divisé en deux lots. Le premier lot a été élevé sans aucune induction artificielle de polyédrose nucléaire alors que le second a été inoculé oralement avec une quantité fixe de polyèdres (7×10^6 polyèdres/ml) en étalant 0,25 ml de suspension polyédrique sur des disques de feuilles de 46,6 cm². Huit de ces disques servent d'aliment à 200 larves de chaque réplicat. En tout, quatre réplicats ont été conservés pour chaque race. On a continué

l'élevage jusqu'au filage dans les deux lots expérimentaux, les observations sur l'incidence de la polyédrose nucléaire et d'autres maladies ont été enregistrées. Le rendement en cocon a été estimé et est présenté dans les tableaux I et II.

RESULTATS ET DISCUSSION

Des données détaillées sur le taux effectif d'élevage et le pourcentage d'incidence de la grasserie et de la flacherie sur les lots normaux et inoculés sont indiquées dans les tableaux I et II.

Les données montrent que dans les lots normaux, la plus faible incidence de la grasserie (0,33%) est enregistrée chez PM et l'incidence la plus élevée (6,33%) chez DF. Il existe une autre race ayant un taux de grasserie élevé ; il s'agit de la souche NB₃C₁ (5,00%). Parmi les races bivoltines couramment utilisées, la souche NB₇ est la plus sensible avec un pourcentage de grasserie atteignant 4,33%. La souche NB₁₈ semble assez résistante (1,66% d'incidence) suivie par la souche NB₄D₂ avec 2,667%.

Dans les lots inoculés par voie buccale avec une suspension polyédrique (lot II), on obtient plus ou moins les mêmes tendances. Une forte incidence de la grasserie (68,667%) est enregistrée avec la souche NB₂D₁ suivie par les souches CB (57,33%), NB₇ (56,334%), NB₃C₁ (55,66%), CA (54,50%), M₅ (52,00%), NB₄D₂ (48,66%), DF (46,50%), EG (45,50%), NB₁₈ (45,33%), KA (39,50%). Elle est faible chez la souche PM avec seulement 18,50%.

Des observations ont également été réalisées sur l'incidence de la flacherie chez toutes les races.

Dans les lots élevés normalement, une incidence élevée de la flacherie chez la souche NB₁₈ (18,667%), suivie des souches M₅ avec (18,00%) et EG (11,67%). Chez les autres races, l'incidence de la flacherie est comparativement faible, variant de 1,167% à 6,33%.

Dans les lots traités, l'incidence de la flacherie varie de 0,533% chez la souche PM à 9,50% chez KA.

Les races hybrides (Table II) prélevées sans induction de la maladie, donnent comparativement un rendement plus élevé en cocons allant de 90,00% à 96,00%. La souche PM × NB₁₈ n'a montré aucun signe de polyédrose nucléaire, alors que l'incidence pour les souches PM × NB₇ et PM × CB était respectivement de 0,33%. La plus forte incidence de la grasserie (5,50%) est enregistrée chez la souche CA × EG suivie par la souche NB₇ × NB₁₈ avec 4,50%, NB₁₈ × NB₇ (3,00%) et PM × EG (1,33%).

Dans les lots où la polyédrose nucléaire est induite artificiellement, on enregistre un taux élevé de grasserie (53,00%) chez la souche NB₁₈ × NB₇ suivie par la souche CA × EG (43,33%). Dans d'autres combinaisons hybrides, l'incidence de la grasserie varie entre 24,50% et 33,16%, le taux le plus faible ayant été enregistré chez la souche PM × NB₇.

En ce qui concerne la flacherie dans les lots normaux, un taux élevé a été enregistré chez la souche NB₁₈ (18,667%) suivie de très près par les souches M₅ (18,00%) et EG (11,66%). En moyenne les combinaisons hybrides sont moins contaminées par la flacherie si on les compare aux races pures.

Dans les lots où la polyédrose nucléaire a été induite, la flacherie est moindre et la mortalité est en grande partie causée par la polyédrose nucléaire.

L'analyse critique des données permet de dire que les races multivoltines sont plus résistantes que les bivoltines, mais on peut également avancer que les hybrides eux-mêmes montrent une plus grande résistance par rapport à leurs parents. Les résultats de cette étude montrent clairement que PM et ses combinaisons avec des races bivoltines sont assez résistantes à la polyédrose nucléaire. Chinnaswamy et Devaiah (1984) ont aussi montré la meilleure résistance de PM par rapport aux races bivoltines atteintes d'aspergillose. Les résultats des diverses expériences d'élevage montrent la supériorité des combinaisons hybrides sur les parents en fonction de traits quantitatifs (Sengupta et coll., 1971). L'étude souligne la nécessité de réaliser des élevages expérimentaux afin de voir l'évolution des races résistantes aux maladies.

MUSCARDINE DISEASE OF SILKWORMS CONTROLLED BY TRIAZOLES

V. M. SREEDHARA*, M.P. SHREE*, G. BORAIAH* & R. A. FLETCHER**

* Bangalore University, Bangalore 9, India

** Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, ON N1G 2W1, Canada.

*The efficacy of the triazole compounds triadimefon and uniconazole were tested for the control of white muscardine disease in *Bombyx mori* L. In silkworms inoculated with muscardine spores, the incidence of disease was minimal in the triazole treated worms and there was no sign of toxicity with topical application. Of the two triazole compounds tested, triadimefon was observed to be more effective than uniconazole. When compared to control worms, oral feeding of these compounds did not change the weight of mature larvae, larval duration, cocoon characters, fecundity and egg hatchability. It is concluded that muscardine disease of silkworms can be effectively controlled by triazoles without any detrimental effects on the commercial characteristics of the silkworm.*

Keywords : *Bombyx mori*, ergosterol, triadimefon, triazoles, uniconazole.

INTRODUCTION

Mulberry silkworm, *Bombyx mori*, is susceptible to several diseases and attack by parasites and pests. The incidence of diseases on silkworms is known to cause 30 to 40 % loss in silk yield in India (Janakiraman, 1961) and the major diseases are white muscardine, pebrine, grasserie, gattine and flacherie. In Karnataka (India), white muscardine caused by the fungus *Beauveria bassiana* is more prevalent and control of this disease has been achieved to a limited extent using certain fungicides and disinfectants such as formalin, dithane, captan and bleaching powder (Samson *et al.*, 1986).

The triazoles belong to a group of chemicals called the "Ergosterol Biosynthesis Inhibitors". They constitute the largest and most important group of systemic compounds, used for the control of a wide range of economically important diseases of plants and animals (Fletcher and Hofstra, 1988 ; Siegel, 1981). These compounds exhibited both plant growth regulating and fungicidal activity and the intensity of their biological activity is dependent on their isomeric form (Fletcher *et al.*, 1986). The use of triazoles to control fungal diseases on silkworms has not been reported so far. Hence, the present study was undertaken to investigate the efficacy of the triazoles in controlling muscardine disease in silkworms and to establish if they had any detrimental effects on their growth, development and commercial characteristics.

MATERIALS AND METHODS

The triazoles triadimefon (50 % wettable powder procured from Chemagro Ltd., Canada) and uniconazole (10 % wettable powder, procured from Chevron Chemical Co., Ltd., USA) were prepared as aqueous solutions and used at various concentrations (Table I, Table II, Table III).

** To whom correspondence should be addressed.

Bivoltine silkworm eggs (NB4D2) were obtained from the National Silkworm Seed Project Grainage, Bangalore (India). Silkworm larvae were maintained under standard laboratory conditions of 25-28 °C temperature and relative humidity of 70-80 % and reared according to the method described by Krishnaswamy *et al.*, 1972. After the 3rd moult, larvae were divided and five replications of 200 larvae were kept for each treatment.

The fungal culture (*Beauveria bassiana*) was obtained from Karnataka State Sericulture Development Institute, Bangalore, in sporulating condition. An aqueous spore suspension (112×10^5 spores/ml) was used as the inoculum to cause artificial infection on silkworm larvae.

Method of application

For the treatment the chemicals were uniformly sprayed on chopped mulberry leaves and air dried for one hour before feeding whereas for the controls they were not treated. These leaves were fed to the experimental larvae daily for one feeding at 11:00 a.m., until the worms reached the spinning stage. Observations on larval duration and weight of mature larvae were recorded. After harvesting the cocoons, their commercial characters were analysed. Also, the fecundity and egg hatchability was tested to determine the possible effects of triazole compounds on silkworm growth.

In another experiment, to test the efficacy of the triazole compounds in controlling the white muscardine disease, the worms were artificially inoculated with *Beauveria bassiana* spores by topical application prior to feeding triazole-treated or non-treated (control) leaves. The survival percentage in silkworm larvae was calculated at the end of each instar.

RESULTS AND DISCUSSION

The silkworms fed on mulberry leaves sprayed with different concentrations of triadimefon and uniconazole did not show any significant difference in the weight of mature larva, larval duration, cocoon weight, shell weight, silk ratio, filament length and effective rate of rearing (ERR) when compared to the control set. Though there was marginal difference in the cocoon characters between treated and control set, the differences were not significant (Table I). Also, the fecundity and percentage of egg hatchability was not affected by the chemical treatment (Table II). This indicated that both the triazoles did not produce any residual toxicity symptoms on silkworms.

Feeding mulberry leaves sprayed with different concentrations of triadimefon and uniconazole increased the survival rate of silkworm larvae inoculated with the spores of *B. bassiana* (Table III). The percentage of larval survival in the controls decreased significantly during the fourth and fifth instar and was lowest at the end of the fifth instar. Compared to 8 % in the controls, the survival rate of silkworms fed with triadimefon treated leaves at a concentration of 0.025 % was the highest with a value of 92 %. The data also indicated that triadimefon was more effective in controlling the muscardine disease of silkworms when compared to uniconazole.

The triazole compounds are known to behave as strong systemic fungicides and control a wide range of economically important diseases caused by fungi in animals and plants (Fletcher *et al.*, 1988; Siegel, 1981). Triazole compounds in fungi interfere with sterol and inhibit ergosterol biosynthesis. This inhibition eventually curtails membrane synthesis and subsequently fungal growth (Buchenauer, 1977; Siegel, 1981). It is obvious from the present results that both the triazoles are effective in protecting silkworms against white muscardine disease.

Triazoles at the concentrations tested did not produce any residual toxicity symptoms in silkworms. They can be safely used to control the white muscardine disease of silkworms and were not phytotoxic to mulberry leaves. The triazoles are also known to improve growth and development of mulberry plants and extend the shelf life of excised leaves (Sreedhara, 1990). Hence, the triazoles can be strongly recommended for the control of white muscardine disease in silkworms, which is devastating the silkworm industry (Samson *et al.*, 1986). They have a broad spectrum of action (Siegel, 1981) and hence, should be tested against other fungal pathogens that cause economic loss to sericulture.

Table I. Effect of feeding mulberry leaves treated with triazoles on the commercial characters of silkworm.

Tableau I. Effet du nourrissage avec des feuilles de mûrier traitées par des triazoles sur les caractères commerciaux du ver à soie.

Chemical concentration (%) <i>Concentration chimique (%)</i>	Weight of mature larvae (g) <i>Poids des larves matures (g)</i>	Larval period (days) <i>Période larvaire (days)</i>	Cocoon weight (g) <i>Poids du cocon (g)</i>	Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	Silk ratio (%) <i>Richesse soyeuse (%)</i>	Filament length (m) <i>Longueur de la bave (m)</i>	ERR (%) <i>ERR (%)</i>
Control / <i>Témoin</i>	4.07	26.77	1.39	0.24	16.7	1147.	83.6
Triadimefon							
0.025	4.10	27.05	1.51	0.25	16.4	1135.	86.9
0.050	4.07	26.53	1.40	0.23	16.2	1120.	85.2
0.100	3.99	26.51	1.43	0.24	16.7	1101.	87.4
Uniconazole							
0.010	4.03	26.71	1.48	0.25	16.2	1131.	86.9
0.025	3.99	26.57	1.43	0.24	16.5	1131.	86.4
0.050	3.98	26.02	1.34	0.23	16.9	1128.	87.4

Table II. Effect of triadimefon and uniconazole on fecundity and egg hatching (%) of silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau II. Effet du triadimefon et de l'uniconazole sur la fécondité et l'éclosion des oeufs (%) du ver à soie *Bombyx mori* L.

Chemical <i>Substance chimique</i>	Concentration (%) <i>Concentration (%)</i>	Fecundity <i>Fécondité</i>	Hatching (%) <i>Eclosion (%)</i>
Control / <i>Témoin</i>	-	530.	94.0
Triadimefon	0.025	587.	97.7
	0.050	571.	98.0
	0.100	538.	95.0
Uniconazole	0.100	530.	93.7
	0.025	539.	94.3
	0.050	546.	93.7

None of the values within each column were significantly different at $p = 0.05$, according to Duncan's multiple-range test / *Aucune des valeurs d'une même colonne ne présente de différence significative pour $p = 0,05$, d'après le test de Duncan.*

Table III. Effect of triadimefon and uniconazole on the survival of silkworm larvae artificially inoculated with *B. bassiana* spores.

Tableau III. Effet du triadimefon et de l'uniconazole sur la survie des larves de vers à soie infestées artificiellement par des spores de *B. bassiana*.

Chemical Substance chimique	Concentration Concentration	Larval survival (%) / Survie larvaire (%)		
		III instar 3è âge	IV instar 4è âge	V instar 5è âge
Control / Témoin	-	92. a	65. a	8. a
Triadimefon	0.025	97. b	96. c	92. d
	0.050	99. b	91. b	77. c
	0.100	100. b	93. b	72. c
Uniconazole	0.010	95. ab	82. b	73. c
	0.025	98. b	83. b	68. c
	0.050	99. b	89. b	55. b

Means within columns followed by the same letter are not significantly different at $p = 0.05$ according to Duncan's multiple-range test.

Les moyennes des colonnes suivies d'une même lettre ne diffèrent pas de manière significative au seuil $p = 0,05$ d'après le test de Duncan.

REFERENCES

- BUCHENAUER H. (1977), Mode of action of triadimefon in *Ustilago avenae*, Pest. Biochem. Physiol., 7, 309-320.
- FLETCHER R. A., HOFSTRA G. (1988), Triazoles as potential plant protectants. In Sterol Biosynthesis Inhibitors (eds. Berg D., Plempel M.) Ellis Hardwood Cambridge.
- FLETCHER R. A., HOFSTRA G., GAO J. (1986), Comparative fungitoxic and plant growth regulating properties of triazole derivatives. Plant Cell Physiol., 27, 367-371.
- JANAKIRAMA A. T. (1961), Diseases affecting the Indian silkworm races. J. Silkworm, 13, 91-101.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M. N., SURYANARAYANA S. K., KUMARARAJ S. (1972), Manual on Sericulture, Vol. 2, Silkworm rearing. Agric. Services Bull., 15, FAO, Rome.
- SAMSON M. V., BAIG M. A., 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(2), 78-83.
- SIEGEL M. R. (1981), Sterol-inhibiting fungicides : effects on sterol biosynthesis and site of action. Plant Disease, 65, 986-989.
- SREEDHARA V. M. (1990), Effect of triadimefon and S-3307 on the growth and development of mulberry. Ph. D. Thesis submitted in Bangalore University, Bangalore, India.

ELIMINATION DE LA MUSCARDINE DES VERS A SOIE PAR LES TRIAZOLES

V.M. SREEDHARA*, M.P. SHREE*, G. BORAIAH* & R.A. FLETCHER**

* Bangalore University, Bangalore 9, Inde.

** Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, ON N1G 2W1, Canada.

On a testé l'efficacité du triadimefon et de l'uniconazole, composés à base de triazole, dans la lutte contre la muscardine blanche chez Bombyx mori L. Chez les vers à soie auxquels ont été inoculés des spores de muscardine, l'incidence de la maladie est minime pour les larves traitées au triazole et il n'y a aucun signe de toxicité par l'application topique. Des deux composés à base de triazole testés, on observe que le triadimefon est le plus efficace. Par rapport aux larves témoins, l'absorption orale de ces composés ne modifie aucun des caractères suivants : poids des larves matures, durée larvaire, caractères du cocon, fécondité et taux d'éclosion des oeufs. On en conclut que les triazoles permettent d'éliminer de manière efficace la muscardine des vers à soie et n'ont pas d'effets nocifs sur les caractéristiques commerciales du ver à soie.

INTRODUCTION

Le ver à soie *Bombyx mori* est sensible à plusieurs maladies et peut être infesté par divers parasites. On sait que l'incidence des maladies du ver à soie est responsable de 30 à 40 % de la perte du rendement en soie en Inde (Janakiraman, 1961) ; les principales maladies sont la muscardine blanche, la grasserie, la gattine et la flacherie. Dans l'Etat du Karnataka (Inde), la muscardine blanche, due au champignon *Beauveria bassiana*, est la plus commune et cette maladie a été éliminée dans une certaine mesure au moyen de certains fongicides et désinfectants tels que le formol, le dithane, le captane et le chlorure de chaux (Samson et coll., 1986).

Les triazoles appartiennent à un groupe de substances chimiques appelées "Inhibiteurs biosynthétiques d'ergostérol". Ils constituent le groupe le plus large et le plus important des composés systémiques et sont utilisés pour la lutte contre un grand nombre de maladies de plantes et d'animaux d'intérêt économique (Fletcher et Hofstra, 1988 ; Siegel, 1981). Ces composés permettent de réguler la croissance de la plante et ont une activité fongicide ; l'intensité de leur activité biologique dépend de leur forme isomérique (Fletcher et coll., 1986). Aucun travail n'a encore été fait sur l'utilisation des triazoles pour lutter contre les maladies fongiques des vers à soie. Cette étude a donc été entreprise pour déterminer l'efficacité des triazoles dans la lutte contre la muscardine des vers à soie et leurs effets nocifs éventuels sur leur croissance, leur développement et leurs caractéristiques commerciales.

MATERIELS ET METHODES

Le triadimefon (poudre hydratable à 50 % fournie par Chemagro, Ltd., Canada) et l'uniconazole (poudre hydratable à 10 % fournie par Chevron Chemical Co., Ltd., USA) sont préparés en solution aqueuse et utilisés à diverses concentrations (Tableaux I à III).

Les oeufs de vers à soie bivoltins (NB4D2) ont été fournis par le National Silkworm Seed Project Grainage, Bangalore (Inde). Les larves de vers à soie sont maintenues dans des conditions expérimentales standards à une température de 25-28 °C et une humidité relative de 70-80 % et sont

élevées suivant la méthode décrite par Krishnaswamy et coll. (1972). Après la troisième mue, les larves sont réparties en cinq réplicats de 200 pour chacun des traitements.

La culture fongique (*Beauveria bassiana*) a été fournie en phase de sporulation par le Karnataka State Sericulture Development Institute, Bangalore. Une solution aqueuse de spores (112×10^5 spores/ml) sert d'inoculum pour provoquer l'infestation artificielle des larves de vers à soie.

Méthode d'application :

Pour le traitement, les substances chimiques sont vaporisées uniformément sur des feuilles de mûrier hachées et séchées à l'air chaud pendant une heure avant le nourrissage alors que, pour le témoin, elles ne sont pas traitées. Ces feuilles sont données une fois par jour à 11 h comme nourriture aux larves jusqu'au stade du filage. Après la récolte, les caractères économiques des cocons sont analysés. La fécondité et le taux d'éclosion des oeufs sont également testés afin de déterminer les effets éventuels des composés à base de triazoles sur la croissance du ver à soie.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les vers à soie nourris de feuilles de mûriers traitées avec différentes concentrations de triadiméfon et d'uniconazole ne présentent aucune différence significative en ce qui concerne le poids de la larve mature, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave et le taux effectif d'élevage (ERR) par rapport au lot témoin. Bien qu'il y ait une faible différence des caractères du cocon entre les lots traités et témoins, celle-ci n'est pas significative (Tableau I). En outre, la fécondité et le pourcentage d'éclosion des oeufs ne sont pas affectés par le traitement chimique (Tableau II). Ceci indique qu'aucun des produits à base de triazoles ne provoque de symptômes de toxicité résiduelle chez les vers à soie.

Le nourrissage avec des feuilles de mûrier traitées avec différentes concentrations de triadiméfon et d'uniconazole permet d'augmenter le taux de survie des larves de vers à soie infestées avec les spores de *B. bassiana* (Tableau III). Le pourcentage de survie larvaire chez les témoins diminue de manière significative pendant le 4^e et le 5^e âge et est minimum au 5^e âge. Par rapport à 8 % chez le témoin, le taux de survie des vers à soie nourris avec des feuilles traitées au triadiméfon est le plus élevé à la concentration de 0,025 % avec une valeur de 92 %. Les données indiquent également que le triadiméfon est plus efficace que l'uniconazole pour lutter contre la muscardine.

On sait que les composés à base de triazoles sont des fongicides systémiques puissants et permettent de lutter contre un grand nombre de maladies commercialement graves causées par des champignons chez les animaux et les plantes (Fletcher et coll., 1988 ; Siegel, 1981). Les composés à base de triazoles interfèrent chez les champignons avec le stérol et inhibent la biosynthèse de l'ergostérol. Cette inhibition finit par bloquer la synthèse des membranes et, donc, la croissance fongique (Buchenauer, 1977 ; Siegel, 1981). Les résultats présentés ici montrent clairement que les deux triazoles permettent de protéger les vers à soie de manière efficace contre la muscardine blanche.

Aux concentrations testées, les triazoles ne provoquent aucun symptôme de toxicité résiduelle chez les vers à soie. Ils peuvent être utilisés sans risque pour lutter contre la muscardine blanche des vers à soie et ne sont pas phytotoxiques pour les feuilles de mûrier. On sait également que les triazoles améliorent la croissance et le développement des plants de mûrier et prolongent la vie des feuilles coupées (Sreedhara, 1990). Il est donc vivement conseillé d'utiliser les triazoles pour lutter contre la muscardine blanche des vers à soie qui cause des ravages dans l'industrie séricicole (Samson et coll., 1986). Ils ont un large éventail d'action (Siegel, 1981) et devraient être testés contre d'autres agents pathogènes fongiques responsables de pertes économiques en sériciculture.

COMPARATIVE STUDY ON THE NUTRITIVE VALUE OF BUSH, LOW-CUT AND TREE MULBERRY LEAVES AT DIFFERENT MATURITY STAGES

M.A. QADER, A.A. SARKER & S.U. AHMED

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi 6100, Bangladesh.

*An experiment was conducted to analyse and evaluate the leaf quality of mulberry grown under bush, low-cut and tree systems of plantation. It was observed that the leaves harvested from tree contained higher crude protein (18.66 %), total sugar (3.36 %), starch (14.55 %), crude fibre (9.32 %) and soluble carbohydrate (17.91 %) than those from low-cut and bush. On the contrary, the leaves harvested from bush contained higher moisture (76.52 %) and minerals (9.35 %) than those of low-cut and tree. The seasonal effects on the nutritive value of mulberry leaves under the three systems of plantation were found to be highly significant. The leaf maturity also had a significant effect on the nutritive value. A suggestion is made to feed young stage larvae with bush or low-cut leaves and late stage larvae with tree leaves in silkworm, *Bombyx mori* L. rearing.*

Keywords : Mulberry, plantation system, leaf maturity, nutritive value.

INTRODUCTION

Mulberry leaves are the only source of food for the silkworm, *Bombyx mori* L., and are generally cultivated in three different forms, viz. bush, low-cut and tree. The growth and development of the larvae and subsequent cocoon crop production depend on the leaf quality, especially the nutrient contents (Bhuyian, 1981). A good number of workers have reported variations in the leaf quality of mulberry due to variety (Krishnaswami *et al.*, 1970b), doses of fertilizers (Pain, 1965 ; Sidhu *et al.*, 1969), planting season, spacing and frequency of pruning (Krishnaswami *et al.*, 1970) and leaf maturity (Krishnaswami *et al.*, 1970b). Bhuyian (1981) reported that silkworm larvae consume preferably leaves that contain higher moisture and less dry matter. Mulberry leaves of bush, low-cut and tree systems of plantation have been found to differ in quality as seen from rearing practices (Gupta, 1961). Essential nutrient contents have been found to vary according to the position of the leaf on the plant (Krishnaswami *et al.*, 1970a ; Narayan *et al.*, 1967 ; Vasuki and Basavanna, 1968). The increase in crude fibre and mineral contents and subsequent decrease in water, protein, and total sugar have been reported with the increasing maturity of the leaves (Yokoyama, 1962). However, no report is available on the qualitative analysis of mulberry leaves raised under different systems of cultivation at different leaf maturity stages.

The present work was undertaken to analyse, study and compare the nutritive value of bush, low-cut and tree mulberry leaves at different leaf maturity stages under different seasons.

MATERIALS AND METHODS

Mulberry variety BSRM-5 raised under bush, low-cut and tree was used for the study. Similar agronomical practices and common fertilizer doses were used (nitrogen 250 kg/ha, phosphorus 125 kg/ha, potassium 100 kg/ha and organic manure 15 mt/ha). The experiment was conducted during

1988 at the Bangladesh Sericulture Research and Training Institute (Rajshahi, Bangladesh) on a sandy clay loam soil under rainfed conditions.

Soil samples from bush, low-cut and tree plots were collected and analysed for their physico-chemical characteristics before application of the fertilizer in the field. Tender, medium and coarse leaves were collected from bush, low-cut and tree during the 3rd week of February (Chaita crop), May (Jaishta crop), August (Bhaduri crop) and November (Agrahayani crop) of 1988. In each crop, leaf samples were weighed, dried in an oven at 70 °C until a constant weight was obtained, desiccated and the moisture content was determined. The dried leaves were powdered and stored for chemical analysis.

The soil nitrogen was estimated by Kjeldahl method (AOAC, 1980). The soil texture was determined by the international pipette method. Phosphorus and potassium contents in the soil were determined from the hydrochloric acid extract according to the method of De (1962). The nutritive value of the leaf was assessed by estimating crude protein, total sugar, reducing sugar, starch, soluble carbohydrate and mineral contents according to the procedure of AOAC (1980).

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained from the physical and chemical analyses of the soil are presented in Table I. It may be seen from the table that the soil texture, pH, water holding capacity and other characteristics were suitable for mulberry cultivation and that the soil characteristics of bush, low-cut and tree plots were more or less similar.

Table I. Physico-chemical characteristics of the soil of bush, low-cut and tree plots.

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques du sol des parcelles de mûriers cultivés sous forme de buisson, en taille basse et sous forme d'arbre.

Characteristics <i>Caractéristiques</i>	Bush plot <i>Buisson</i>	Low-cut plot <i>Taille basse</i>	Tree plot <i>Arbre</i>
Organic matter (%) / <i>Matières organiques (%)</i>	1.55	1.51	1.56
Nitrogen (%) / <i>Azote (%)</i>	0.08	0.08	0.079
Available phosphorus (ppm) / <i>Phosphore disponible (ppm)</i>	126	128	125
Potassium (meq %) / <i>Potassium (% meq)</i>	6.45	6.52	6.39
pH / <i>pH</i>	7.42	7.50	7.45
Sand (%) / <i>Sable (%)</i>	59.00	56.00	59.00
Silt (%) / <i>Limon (%)</i>	18.00	20.00	18.50
Clay (%) / <i>Argile (%)</i>	23.00	24.00	22.50
Water holding capacity (%) / <i>Capacité de rétention de l'eau (%)</i>	49.00	48.20	48.60
Texture / <i>Texture</i>	SCL*	SCL	SCL

* Sandy clay loam / *Terreau d'argile sableux.*

Table II represents the nutritive value of the leaves of bush, low-cut and tree in four different seasons. Tree leaves contained higher rates of crude protein, total sugar, starch, crude fibre and soluble carbohydrate in all seasons except total sugar content in S₃ (August) season. Differences in nutritive

Table II. Nutritive values of bush, low-cut and tree mulberry leaves in four seasons.

Tableau II. Valeur nutritive des feuilles de mûriers cultivés en buisson, en taille basse et en arbres au cours des quatre saisons.

Planting system <i>Système de plantation</i>	Moisture* <i>Humidité*</i>	Mineral <i>Minéraux</i>	Crude protein <i>Protéines brutes</i>	Total sugar <i>Sucres totaux</i>	Reducing sugar <i>Sucres réducteurs</i>	Starch <i>Amidon</i>	Soluble carbohydrate <i>Hydrates de carbone solubles</i>	Crude fibre <i>Fibres brutes</i>
February 1988 (S₁) / Février 1988 (S₁)								
Bush / <i>Buisson</i>	75.74	10.27	16.91	2.50	1.04	12.13	14.63	7.55
Low-cut / <i>Taille basse</i>	74.87	8.24	17.21	3.07	1.62	14.04	17.10	8.28
Tree / <i>Arbre</i>	74.10	8.75	18.72	3.85	1.18	14.51	18.36	9.30
CD at 1 %	0.18	0.15	0.11	0.12	0.10	0.16	0.15	0.15
May 1988 (S₂) / Mai 1988 (S₂)								
Bush / <i>Buisson</i>	74.10	9.64	17.74	2.82	1.05	13.43	16.25	7.40
Low-cut / <i>Taille basse</i>	70.02	9.41	17.79	3.15	1.53	14.22	17.37	8.19
Tree / <i>Arbre</i>	66.36	8.31	18.88	3.58	1.68	15.01	18.59	9.38
CD at 1 %	0.14	0.15	0.16	0.14	0.13	0.11	0.18	0.17
August 1988 (S₃) / Août 1988 (S₃)								
Bush / <i>Buisson</i>	78.65	8.59	17.17	3.14	0.94	13.43	16.57	7.48
Low-cut / <i>Taille basse</i>	77.62	8.14	17.28	3.03	1.18	13.81	16.84	8.32
Tree / <i>Arbre</i>	76.21	8.29	18.46	2.57	0.86	14.72	17.29	9.27
CD at 1 %	0.13	0.14	0.15	0.10	0.12	0.11	0.18	0.13
November 1988 (S₄) / Novembre 1988 (S₄)								
Bush / <i>Buisson</i>	77.58	8.89	16.53	3.05	0.75	13.46	16.52	7.43
Low-cut / <i>Taille basse</i>	76.61	8.20	17.74	3.47	1.44	13.68	17.15	8.25
Tree / <i>Arbre</i>	73.29	8.19	18.56	3.44	1.32	13.96	17.40	9.36
CD at 1 %	0.32	0.22	0.31	0.15	0.14	0.11	0.15	0.16

* Percentage on an oven dry basis / *Pourcentage calculé par séchage au four.*

Table III. Seasonal effects on the nutritive values of bush, low-cut and tree mulberry leaves.

Tableau III. Effet des saisons sur la valeur nutritive des feuilles de mûriers cultivés en buisson, en taille basse et en arbres.

Types of plantation <i>Type de plantation</i>	Season <i>Saison</i>	Moisture* <i>Humidité*</i>	Mineral <i>Minéraux</i>	Crude protein <i>Protéines brutes</i>	Total sugar <i>Sucres totaux</i>	Reducing sugar <i>Sucres réducteurs</i>	Starch <i>Amidon</i>	Soluble carbohydrate <i>Hydrates de carbone solubles</i>	Crude fibre <i>Fibres brutes</i>
Bush / Buisson	S ₁	75.74	10.27	16.91	2.50	1.04	12.13	14.63	7.40
	S ₂	74.10	9.64	17.74	2.82	1.05	13.43	16.25	7.25
	S ₃	78.65	8.59	17.17	3.14	0.94	13.43	16.57	7.48
	S ₄	77.58	8.89	16.53	3.05	0.75	13.46	16.52	7.43
	CD at 1 %	0.40	0.12	0.23	0.20	0.15	0.20	0.19	NS
Low-cut / Taille basse	S ₁	74.87	8.24	17.21	3.07	1.62	14.04	17.10	8.28
	S ₂	70.02	9.41	17.79	3.15	1.53	14.22	17.37	8.32
	S ₃	77.62	8.14	17.28	3.03	1.18	13.81	16.84	8.19
	S ₄	76.61	8.20	17.74	3.47	1.44	13.68	17.15	8.25
	CD at 1 %	0.34	0.10	0.12	0.10	0.09	0.18	0.19	NS
Tree / Arbre	S ₁	74.10	8.75	18.72	3.85	1.18	14.51	18.36	9.30
	S ₂	66.36	8.31	18.88	3.58	1.68	15.01	18.69	9.38
	S ₃	76.21	8.29	18.46	2.57	0.86	14.72	17.29	9.27
	S ₄	73.29	8.19	18.56	3.44	1.32	13.96	17.40	9.36
	CD at 1 %	0.32	0.10	0.21	0.11	0.10	0.22	0.16	NS

NS : Not significant / *Non significatif.*

S₁ : February 1988 / *Février 1988.*

S₂ : May 1988 / *Mai 1988.*

S₃ : August 1988 / *Août 1988.*

S₄ : November 1988 / *Novembre 1988.*

* Percentage on an oven dry basis / *Pourcentage calculé par séchage au four.*

values among bush, low-cut and tree were found to be highly significant. The bush leaves contained higher moisture and mineral contents in all the seasons followed by low-cut and tree. The differences were also highly significant.

The seasonal effects on the nutritive value of the leaves of bush, low-cut and tree were collected in Table III. It may be seen from the table that maximum moisture content occurred in S₃ (August) season (78.65 %, 77.62 % and 76.21 % for bush, low-cut and tree respectively), whereas maximum crude protein content was observed in S₂ (May) season (17.74 %, 17.79 % and 18.88 % for bush, low-cut and tree respectively). Mineral content was higher in S₁ (February) season except for low-cut. Low-cut and tree showed maximum soluble carbohydrate in S₂ season (17.37 % and 18.69 % respectively) and bush in S₃ season (16.57 %).

The mean nutritive values of bush, low-cut and tree leaves during the four seasons were found to be highly significant (Table IV). Tree leaves showed higher crude protein (18.66 %), total sugar (3.36 %), starch (14.55 %), soluble carbohydrate (17.91 %) and crude fibre (9.32 %) contents, whereas bush leaf showed higher moisture (76.52 %) and mineral (9.35 %) contents. Das Gupta (1961) also found significant differences in the nutritional value among bush, low-cut and tree leaves from rearing practices.

Table IV. Mean nutritive values of bush, low-cut and tree mulberry leaves.

Tableau IV. Valeur nutritive moyenne des feuilles de mûriers cultivés en buisson, en taille basse et en arbres.

Planting system <i>Système de plantation</i>	Moisture <i>Humidité</i>	Mineral <i>Minéraux</i>	Crude Protein <i>Protéines brutes</i>	Total sugar <i>Sucres totaux</i>	Reducing sugar <i>Sucres réducteurs</i>	Starch <i>Amidon</i>	Soluble carbohydrate <i>Hydrates de carbone solubles</i>	Crude fibre <i>Fibres brutes</i>
Bush <i>Buisson</i>	76.52*	9.35	17.09	2.88	0.95	13.11	15.99	7.46
Low-cut <i>Taille basse</i>	74.83	8.50	17.53	3.18	1.44	13.93	17.11	8.26
Tree <i>Arbre</i>	72.49	8.38	18.66	3.36	1.26	14.55	17.91	9.32
CD at 1 %	0.22	0.32	0.15	0.10	0.11	0.13	0.18	0.22

(Percentage on an oven dry basis / *Pourcentage calculé par séchage au four*).

* Average of four seasons / *Moyenne des quatre saisons*.

Significant differences in the leaf quality of bush, low-cut and tree were observed due to leaf maturity (Table). Tender leaves from bush contained higher moisture (79.49 %) followed by low-cut and tree (75.63 % and 75.56 % respectively). Higher crude protein (19.18 %) and soluble carbohydrate (19.98 %) contents were observed in tender and coarse leaves respectively of tree mulberry.

It is reported that during the summer season when the atmospheric temperature is high and the photoperiod is long, mulberry leaves grow efficiently and contain a higher nutritive value. But in the rainy season, although mulberry leaves grow vigorously, they contain more moisture and less crude

Table V. Nutritive values of bush, low-cut and tree mulberry leaves at different leaf maturity levels.

Tableau V. Valeur nutritive des feuilles de mûriers cultivés en buisson, en taille basse et en arbres à différents niveaux de maturités.

Planting system Système de plantation	Maturity level Niveau de maturité	Moisture Humidité	Mineral Minéraux	Crude Protein Protéines brutes	Total sugar Sucres totaux	Reducing sugar Sucres réducteurs	Starch Amidon	Soluble carbohydrate Hydrates de carbone solubles	Crude fibre Fibres brutes
Bush Buisson	Tender / <i>Tendre</i>	79.49*	7.74	17.44	2.49	0.91	12.31	14.80	6.60
	Medium / <i>Moyen</i>	77.18	9.16	17.29	3.02	0.99	13.12	16.14	7.45
	Coarse / <i>Dur</i>	72.89	11.15	16.54	3.13	0.94	13.91	17.04	8.35
	CD at 1 %	0.34	0.28	0.16	0.10	NS	0.11	0.15	0.11
Low-cut Taille basse	Tender / <i>Tendre</i>	78.08	7.48	17.90	2.09	0.99	13.43	15.52	6.85
	Medium / <i>Moyen</i>	75.63	8.34	17.75	3.31	1.74	13.88	17.19	8.33
	Coarse / <i>Dur</i>	70.78	9.67	16.94	4.15	1.60	14.48	18.63	9.60
	CD at 1 %	0.15	0.12	0.21	0.12	0.15	0.18	0.31	0.26
Tree Arbre	Tender / <i>Tendre</i>	75.56	7.36	19.18	2.70	1.00	13.30	16.00	7.23
	Medium / <i>Moyen</i>	72.35	8.04	18.77	3.40	1.30	14.35	17.75	9.80
	Coarse / <i>Dur</i>	69.56	9.75	18.01	3.99	1.48	16.00	19.98	10.95
	CD at 1 %	0.18	0.16	0.11	0.10	0.15	0.15	0.18	0.44

(Percentage on an oven dry basis / Pourcentage calculé par séchage au four).

* Average of four seasons / Moyenne des quatre saisons.

NS : Not significant / Non significatif.

protein, soluble carbohydrate and mineral (Anonymous, 1984). The results presented herein are in good agreement with the above findings for S₂ (May) and S₃ (August) seasons.

Table V also reveals that the moisture and crude protein contents gradually decreased and soluble carbohydrate, mineral and crude fibre contents increased with the increase in leaf maturity. Hiratsuka (1920), Hassanein and Shaawary (1962), Krishnaswami *et al.*, (1970a), Nakajima (1931), Vasuki and Basavanna (1968) have reported variations in the nutritive value of mulberry leaves according to the maturity.

CONCLUSION

From the preceeding discussion, it may be concluded that tree mulberry leaves are relatively richer in crude protein and soluble carbohydrate which are essential for good cocoon crop production whereas bush leaves are richer in moisture and mineral contents. Therefore it may be safely suggested that bush or low-cut leaves may be used for feeding young stage and tree leaves for late stage larvae in silkworm rearing.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1984), Silkworm rearing. Regional Sericulture Training Centre, Guanzhou, China, 19-20.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) (1980), Methods of analysis. 13th ed., Washington D.C. 20044, USA.
- BHUYIAN N.I. (1981), Improvement of silkworm multiplication and silk production under Bangladesh condition. Bangladesh Agricultural Univ., Mymensingh, 60-61.
- DAS GUPTA K.P. (1961), Feeding mulberry to silkworm. A comparative analytical study on the effect of feeding with different types of mulberry leaves obtained by different methods of cultivation on silkworm, *Bombyx mori* L. Ind. Silk J., 1(4), 14-22.
- DE S.K. (1962), Methods of soil analysis. Narayanan Publishing House, Allahabad, India.
- HIRATSUKA E. (1920), Researches on the nutrition of the silkworm. Bull. Seric. Exp. Sta. Tokyo, 1, 257-315.
- HASSANEIN M.H., SHAAWARY M.F. (1962), The nutritional value of certain mulberry varieties. J. of Silkworms, 14, 211-223.
- KRISHNASWAMI S., ASAN M., SRIHARAN T.P. (1970a), Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon crop production. Quality differences due to leaf maturity. Ind. J. Seric., 9(1), 11-25.
- KRISHNASWAMI S., NOAMANI K.P., ASAN M. (1970b), Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon crop production. Part I. Quality differences due to varieties. Ind. J. Seric., 9(1), 1-10.
- NARAYAN E.S., KASIVISWANATHAN K., SITARAMA IYENGER M.F. (1967), Preliminary studies on the effects of feeding leaves of varying maturity on the larval development and cocoon characters of *Bombyx mori* L. Ind. J. Seric., 1(2), 109-113.
- NAKAJIMA S. (1931), Changes of physical and chemical properties in mulberry leaves in relation to their age and manuring from silkworm nutritive point of view. Bull. Nagano Seric. Exp. Sta., 14, 1-125.
- PAIN A.K. (1965), Effect of NPK fertilizers and their combination on yield and nutritive value of mulberry. Ind. J. Seric., 4(1), 1-8.
- SIDHU N.S., KASIVISWANATHAN K., SITARAMA IYENGER M.N. (1969), Effects of feeding leaves grown under NP and K fertilizers on the larval development and cocoon characters of *Bombyx mori* L. Ind. J. Seric., 8, 55-60.
- VASUKI K., BASAVANNA A.M. (1968), Free nitrogenous constituents of mulberry leaves. Ind. J. Seric., 8, 40.
- YOKOYAMA T. (1962), Synthesised Science of Sericulture. Central Silk Board, India, 62-63.

ETUDE COMPARATIVE DE LA VALEUR NUTRITIVE DES FEUILLES DE MURIERS A DIFFERENTS STADES DE MATURITE ET PROVENANT DE BUISSONS, D'ARBRES ET D'ARBRES TAILLES

M.A. QADER, A.A. SARKER & S.U. AHMED

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi 6100, Bangladesh.

*Une expérience a été réalisée afin d'analyser et d'évaluer la qualité des feuilles de mûriers en fonction des systèmes de plantation (buisson, arbres et arbres taillés). On a observé que les feuilles ramassées sur l'arbre contenaient d'avantage de protéines brutes (18,66 %), de sucres (3,36 %), d'amidon (14,55 %), de fibres brutes (9,32 %) et d'hydrates de carbone soluble (17,91 %) que les feuilles provenant d'arbres taillés ou de buissons. Par opposition, les feuilles provenant de buissons contenaient davantage d'humidité (76,52 %) et de minéraux (9,35 %) par rapport à celles des arbres et des arbres taillés. Pour les trois systèmes de plantation, la valeur nutritive des feuilles de mûriers dépend de manière significative de la saison. La maturité de la feuille a également un effet sur la valeur nutritive. Il est suggéré de nourrir les jeunes larves de ver à soie *Bombyx mori* avec des feuilles récoltées sur des buissons ou des arbres taillés, puis d'utiliser les feuilles des arbres pour l'élevage des vers à soie au dernier stade.*

INTRODUCTION

Les feuilles de mûriers constituent l'unique aliment du ver à soie *Bombyx mori* L. et sont généralement cultivées sous trois formes différentes à savoir en buisson, en arbres et en arbres taillés. La croissance et le développement des larves et la production de cocons dépendent essentiellement de la qualité de la feuille et, en particulier, des contenus en nutriments (Bhuyian, 1981). Un grand nombre de chercheurs ont signalé l'existence de variations dans la qualité des feuilles de mûriers liées à la variété (Krishnaswami et coll., 1970b), aux doses de fertilisants (Pain, 1965 ; Sidhu et coll., 1969), à la saison de plantation, à l'espacement, à la fréquence de la taille (Krishnaswami et coll., 1970) et à la maturité de la feuille (Krishnaswami et coll., 1970a). Bhuyan (1981) souligne que les larves de vers à soie mangent davantage de feuilles contenant plus d'humidité et moins de matière sèche. Les feuilles de mûrier des systèmes de plantation en buisson, arbres et arbres taillés n'ont pas la même qualité comme le montrent les pratiques d'élevage (Gupta, 1961). Les contenus en nutriments essentiels varient en fonction de la position de la feuille sur la plante (Krishnaswami et coll., 1970a; Narayan et coll., 1967 ; Vasuki et Basavanna, 1968). On a constaté une augmentation des contenus en fibres et en minéraux accompagnée d'une baisse de la teneur en eau, en protéines et en sucres totaux au fur et à mesure de la maturation de la feuille (Yokoyama, 1962). Néanmoins, il n'existe aucune étude sur l'analyse qualitative des feuilles cultivées avec les différents systèmes et sur les différents stades de maturité.

Cette étude a été effectuée dans le but d'analyser et de comparer la valeur nutritive des feuilles de mûriers cultivées en buisson, taille basse et arbres et en fonction de la maturité des feuilles et des saisons.

MATERIELS ET METHODES

La variété de mûrier BSRM-5 cultivée en buisson, taille basse et arbre a été utilisée pour cette étude. Des pratiques agronomiques similaires et des doses d'engrais identiques ont été utilisées dans les trois cas (250 kg/ha d'azote, 125 kg/ha de phosphore, 100 kg/ha de potassium ainsi 15 mt/ha d'engrais organiques). L'expérience a été réalisée en 1988 au Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, sur un sol sablonneux et argileux sans irrigation.

Des échantillons provenant de buissons, d'arbres taillés et non taillés ont été prélevés et analysés pour leurs caractéristiques physico-chimiques avant l'application d'engrais sur le champ. Les feuilles tendres, moyennement tendres et dures ont été ramassées sur des buissons, des arbres taillés et non taillés pendant la 3^{ème} semaine de février (récolte de Chaita), de mai (récolte de Jaistha), d'août (récolte de Bhaduri) et de novembre (récolte d'Agrahayani) en 1988. Pour chaque récolte, des échantillons de feuilles de mûriers ont été pesés et séchés dans un four à 70 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant afin de mesurer le contenu en eau et en matière sèche. Les feuilles séchées ont été réduites en poudre et conservées afin de procéder à l'analyse chimique.

Le contenu en azote du sol est calculé par la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1980). La texture est déterminée par la méthode internationale de Pipette. Les contenus en phosphore et en potassium du sol sont déterminés à partir de l'extrait d'acide chlorhydrique d'après la méthode de De (1962). La valeur nutritive de la feuille est calculée en donnant une estimation des contenus bruts en protéines, en sucres totaux, en sucres réducteurs, en amidon, en hydrates de carbone solubles et en minéraux en suivant les méthodes de l'AOAC (1980).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des analyses chimiques et physiques du sol sont présentés dans le tableau I. On remarque, d'après celui-ci, que la texture du sol, le pH, la capacité de rétention d'eau et bien d'autres caractéristiques sont favorables pour la culture du mûrier et que les caractéristiques des sols des plantations en buisson et en arbres taillés ou non sont plus ou moins semblables.

Le tableau II donne la valeur nutritive des feuilles de mûrier des plantations en buisson et en arbres taillés et non taillés au cours de quatre saisons différentes. Les feuilles contiennent un taux élevé de protéines, de sucres totaux, d'amidon, de fibres et d'hydrates de carbone solubles pour toutes les saisons excepté pour la saison S₃ (août) en ce qui concerne les sucres totaux. Les différences dans les valeurs nutritives en fonction du type de plantation sont très significatives. Les feuilles des buissons contiennent un taux d'humidité et un contenu en minéraux supérieurs et pour toutes les saisons ; viennent ensuite les feuilles des arbres taillés puis celles des non taillés. Les différences sont très significatives.

Les effets des saisons sur la valeur nutritive des feuilles des buissons, arbres taillés et non taillés ont été recueillis dans le tableau III. On constate, d'après ce tableau, que le contenu maximum d'humidité est enregistré pendant la saison S₃ (août) avec 78,65 %, 77,62 % et 76,21 % pour les buissons, les arbres taillés et les arbres non taillés respectivement. Le contenu en minéraux est élevé pour la saison S₁ (février), excepté chez les buissons. Les arbres taillés et non taillés ont un taux d'hydrates de carbone très élevé pendant la saison S₂ (atteignant respectivement 17,37 % et 18,59 %), alors que pour les buissons et pour la saison S₃ il n'atteint que 16,57 %.

Les valeurs nutritives moyennes des feuilles des buissons, arbres taillés et arbres non taillés au cours des quatre saisons diffèrent de manière significative (Tableau IV). Les feuilles des arbres ont un contenu élevé en protéines brutes (18,66 %), en sucres totaux (3,36 %), en amidon (14,55 %), en hydrates de carbone solubles (17,91 %) et en fibres brutes (9,31 %) alors que les feuilles des buissons ont un contenu en eau (76,52 %) et en minéraux (9,35 %) plus élevé. Das Gupta (1961) a également constaté des différences significatives de la valeur nutritive suivant que les feuilles proviennent de buissons, d'arbres taillés ou non taillés.

Des différences significatives dans la qualité de la feuilles provenant des buissons, des arbres taillés et non taillés ont été constatées en fonction de la maturité de la feuille (Tableau V). Les feuilles tendres provenant des buissons contiennent une plus grande quantité d'eau (79,49 %) que les feuilles provenant d'arbres taillés et de celles des arbres non taillés avec un pourcentage respectif de 75,63 %

et 75,56 %. On remarque un taux élevé en protéines brutes (19,18 %) ainsi qu'en hydrates de carbone (19,98 %) aussi bien dans les feuilles tendres que dans les feuilles dures.

On a noté qu'au cours de la saison d'été, lorsque la température atmosphérique est élevée et que l'on a une photopériode longue, la croissance des feuilles de mûriers est importante et le contenu en matières nutritives est élevé. Mais au cours de la saison pluvieuse, bien que les feuilles de mûrier poussent vigoureusement, on constate que les taux d'humidité, de protéines brutes, d'hydrates de carbone solubles et de minéraux sont plus faibles (Anonymous, 1984). Les résultats obtenus dans cette étude concordent avec les résultats mentionnés ci-dessus pour ce qui est des saisons S₂ et S₃ (mai et août).

Le tableau V montre également que les taux d'humidité et de protéines brutes diminuent graduellement alors que les hydrates de carbone solubles, les minéraux et les fibres augmentent en fonction de la maturité de la feuille. Hiratsuka (1920), Hassanein et Shaawary (1962), Krishnaswami et coll. (1970a), Nakajima (1931) et Vasuki et Basavanna (1968) ont souligné l'existence d'une variation de la valeur nutritive des feuilles de mûriers en fonction de la maturité.

CONCLUSION

En accord avec la discussion, on peut conclure que les feuilles de mûriers provenant des arbres sont plus riches en protéines et en hydrates de carbone solubles, deux éléments essentiels pour obtenir une bonne production de cocons, alors que les feuilles provenant de buissons contiennent davantage d'eau et de minéraux. On peut donc sans crainte proposer le nourrissage des jeunes larves avec des feuilles provenant de buissons ou d'arbres taillés et réserver les feuilles de mûriers provenant des arbres pour le nourrissage des derniers âges dans les élevages de vers à soie.

CHANGES IN THE ELEMENTAL COMPOSITION OF MULBERRY LEAVES (*MORUS ALBA* L. VAR. S-54) INFECTED BY FOLIAR PATHOGENS

M. P. SHREE & N. N. UMESH KUMAR

Plant Pathology Section, Department of Sericulture, Bangalore University, P.K. Block,
Bangalore 560 009, India.

Changes in the elemental composition of mulberry leaves (Morus alba L. Var. S-54) after an attack by the powdery mildew (causal organism : Phyllactinia corylea), spot (causal organism : Cercospora moricola) and rust (causal organism : Aecidium mori) diseases were investigated. Of the 22 elements (Cu, Pb, Zn, Ni, Co, Mo, Sn, W, Zr, Ag, Sb, As, Bi, Cr, V, Ba, Sr, Ga, Be, Y, La and Nb) analysed, 13 were found to be affected (Ba, Cr, Cu, Ga, Pb, Mo, Ni, Ag, Nb, Sn, V, Y, and Zr) by fungal infections ; while the contents of the other 9 elements (Sb, As, Be, Bi, Co, La, Sr, W and Zn) remained unaltered. All the three infections increased the Vanadium content and decreased the Copper, Molybdenum, Gallium and Yttrium contents. Spot and rust caused significant increase in the Silver content of diseased leaves while the mildew drastically increased the Nickel content.

Keywords : Mulberry, powdery mildew, leaf spot, rust, mineral content.

INTRODUCTION

Mulberry constitutes the basic food for the silkworm, *Bombyx mori*. There are a number of diseases which affect the normal growth of mulberry such as powdery mildew caused by *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst, leaf spot caused by *Cercospora moricola* Cooke and leaf rust caused by *Aecidium mori* (Berel) Syd et Buttler. Of these, the powdery mildew and rust are caused by biotrophs. The study of nutrition of the host and the pathogen is of paramount importance. A knowledge of nutrition of plant pathogens is not only of academic interest, but is also helpful in certain cases for finding out specific control measures. The nutritional aspects of host parasite relationship have been discussed in detail (Garber, 1954, 1956).

Timely supply of requisite quantities of the elements can give a good yield of mulberry leaves which can also be nutritionally superior. Fungal pathogens are known to utilise some of the elements present in the host for their own growth (Mehrotra, 1985). So far, attempts have been made to know the changes in the biochemical constituents such as total phenols, proteins, sugars, amino acids etc., of the healthy and diseased plants. Cyto-histological features of malformations in mulberry roots induced by heavy metals like Cadmium, Copper and Zinc has been worked out by Kuno (1984). He has also studied the effects of heavy metals like Cadmium, Copper and Nickel on the photosynthetic rates and morphogenesis in mulberry leaves. But in the available literature we could not locate any work regarding the changes in the elemental composition of the host, particularly mulberry, due to fungal attack. Hence, it was thought worthwhile to investigate the post-infectious changes in the elemental composition of mulberry leaves affected by fungal pathogens.

MATERIALS AND METHODS

The healthy, powdery mildew, spot and rust infected leaves of S-54 variety were collected from the Germplasm Bank, Jnana Bharathi Campus, Bangalore University, Bangalore, in December 1988. The leaf samples were washed thoroughly with distilled water, 0.1 % HCl, later through running water and blotted. The leaves were cut into small pieces and dried at 65 °C in an oven. Twenty mg of the sample were taken in a clean porcelain crucible and heated in the furnace up to 800 °C to get the ash. The ash along with 20 mg of the carbon powder was ground using a mortar and pestle. The samples were later loaded into the pure graphite electrode and viewed in the Jassal Ash Spectrograph (made in USA) to get the line spectra on the spectrographic plate for the following 22 elements : Antimony, Arsenic, Barium, Beryllium, Bismuth, Chromium, Cobalt, Copper, Gallium, Lanthanum, Lead, Molybdenum, Nickel, Niobium, Silver, Strontium, Tin, Tungsten, Vanadium, Yttrium, Zinc and Zirconium. The results are expressed in ppm per 20 mg sample. The data were statistically analysed applying t-test.

RESULTS

The changes in the elemental composition of healthy, powdery mildewed, spot and rust infected mulberry leaves are given in Table I. Of the 22 elements analysed 13 were found to be affected by fungal infections while the composition of the other 9 elements, viz. Antimony, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Strontium, Tungsten and Zinc remained unchanged. All the three infections increased the vanadium content and decreased the Copper, Molybdenum, Gallium and Yttrium contents ($P < 0.001$).

An increase in the contents of Chromium, Nickel, Tin, Vanadium due to powdery mildew disease was noticed; there was a drastic increase in the Chromium, Nickel and Tin contents. Infection brought a decrease in the contents of Copper, Gallium, Lead, Molybdenum, Silver, Yttrium and Zirconium of which Copper content was drastically decreased. However, there was no change in the contents of Antimony, Arsenic, Barium, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Niobium, Strontium, Tungsten and Zinc in the diseased leaves when compared to healthy ones.

The spot infected leaves recorded an increase in the contents of Barium, Lead, Silver and Vanadium compared to healthy leaves. Of these, a drastic increase was noticed with regard to Barium, Lead and Silver contents. The infection significantly decreased the level of Chromium, Copper, Gallium, Molybdenum and Yttrium ($P < 0.001$). The reduction of Chromium was significant. The disease had no effect on the contents of Antimony, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Nickel, Niobium, Strontium, Tin, Tungsten, Zinc and Zirconium.

The rust infected mulberry leaves showed an increase in the contents of Barium, Lead, Niobium, Silver, Vanadium and Zirconium; of these, significant increase was noticed in Barium and Silver contents. Only Chromium, Copper, Gallium, Molybdenum, Nickel and Yttrium contents were reduced due to infection. The decrease was drastic in the Chromium content. Infection did not alter the contents of Antimony, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Strontium, Tin, Tungsten and Zinc.

DISCUSSION

Fungi are known to depend on 17 elements to meet their nutritional requirements. These are Carbon, Hydrogen, Oxygen, Nitrogen, Potassium, Phosphorus, Calcium, Sulphur, Magnesium, Iron, Manganese, Zinc, Copper, Molybdenum, Scandium, Vanadium and Gallium.

Gallium and vanadium are utilised by few fungi (Mehrotra, 1985). Raulin's studies on *Aspergillus niger* (1869) showed that Zinc is one of the essential micronutrients. Fungi need Copper in a very small quantity. It may play a role in their chlorine metabolism (Mehrotra, 1985). The role of molybdenum in the metabolism and growth of fungi growing with nitrogen sources other than nitrate is obscure. This metal could enhance pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) in the mycelia of *Fusarium vasinfectum* (Subramanian, 1956). Other inorganic nutrients which are reported to be essential micronutrients are Cobalt, Gallium and Vanadium. *Aspergillus niger*

responds slightly to Vanadium. (Bertrand, 1941). Although evidence indicating the essentiality of cobalt has been presented quite often (Marston, 1952), it is doubtful whether it is needed for fungal growth. In actinomycetes, bacteria and animals, Cobalt is known to be essential for the synthesis of compounds of vitamin B-12 group.

Table I. Composition of elements* in the healthy, mildewed, spot and rust infected mulberry leaves (*Morus alba* L. var. S-54).

Tableau I. Composition en éléments* des feuilles de *Morus alba* L. (var. S-54) saines et infectées par le mildiou, la tache et la rouille.

Elements		Healthy leaves	Diseased leaves (ppm in 20 mg dry wt.)		
<i>Eléments</i>			Mildew	Spot	Rust
			<i>Feuilles infectées (ppm/20 mg de poids sec)</i>		
			<i>Mildiou</i>	<i>Tache</i>	<i>Rouille</i>
Antimony / Antimoine	(Sb)	< 100	< 100	< 100	< 100
Arsenic / Arsenic	(As)	< 300	< 300	< 300	< 300
Barium / Baryum	(Ba)	50	50	120	150
Beryllium / Béryllium	(Be)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Bismuth / Bismuth	(Bi)	< 20	< 20	< 20	< 20
Chromium / Chrome	(Cr)	25	> 300	12	8
Cobalt / Cobalt	(Co)	< 1	< 1	< 1	< 1
Copper / Cuivre	(Cu)	80	40	60	60
Gallium / Gallium	(Ga)	0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Lanthanum / Lanthane	(La)	< 30	< 30	< 30	< 30
Lead / Plomb	(Pb)	4	1	20	10
Molybdenum / Molybdène	(Mo)	1	0.5	< 0.5	< 0.5
Nickel / Nickel	(Ni)	2	120	2	1
Niobium / Niobium	(Nb)	< 1	< 1	< 1	1
Silver / Argent	(Ag)	0.8	0.4	150	300
Strontium / Strontium	(Sr)	> 300	> 300	> 300	> 300
Tin / Etain	(Sn)	1	15	1	1
Tungsten / Tungstène	(W)	< 30	< 30	< 30	< 30
Vanadium / Vanadium	(V)	1	2	2	3
Yttrium / Yttrium	(Y)	1	< 1	< 1	< 1
Zinc / Zinc	(Zn)	< 30	< 30	< 30	< 30
Zirconium / Zirconium	(Zr)	3	< 3	3	5

* Significance of difference from control : $P < 0.001$ / Différence significative par rapport au témoin : $P < 0,001$.

The simplest explanation for the decrease observed in some of the elements in the present investigation is that they are utilised by the fungal pathogens for their growth. The increase observed in certain contents is speculated to be due to induced synthesis or the fungal pathogens themselves might be composed of these elements – when the disease tissue is analysed, the content of the host

as well as that of the fungus must be considered. Sundareshwaran *et al.* (1988) have observed an increase in the total mineral content of rust infected mulberry leaves.

ACKNOWLEDGEMENT

Thanks are due to Dr G. Boraiah, Professor and Chairman (Retired), Department of Sericulture, Bangalore University, P. K. Block, Bangalore 560 009, India, for encouragement.

REFERENCES

- BERTRAND D. (1941), Le vanadium comme facteur de croissance pour l'*Aspergillus niger*. Bull. Soc. Chem. Biol., 23, 467-471.
- GARBER E. D. (1954), The role of nutrition in the host parasite relationship. Proc. Nat. Acad. Sci., 40, 1112-1118.
- GARBER E.D. (1956), A nutrition inhibition hypothesis of pathogenicity. Am. Naturalist, 40, 183-194.
- KUNO K. (1984), Cyto-histological malformation in mulberry roots induced by heavy metals. J. Seric. Sci. Japan, 53(3), 191-197.
- IBID (1984), Effects of heavy metals on the photosynthetic rates and morphogenesis in mulberry leaves. J. Seric. Sci. Japan, 53(3), 198-205.
- MARSTON H. R. (1952), Cobalt, copper and molybdenum in the nutrition of animals and plants. Physiol. Rev., 32, 66-121.
- MEHROTRAR S. (1985), Plant Pathology. Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd., New Delhi, p. 246-247.
- RAULIN J. (1869), Etudes chimiques sur la végétation. Ann. Sci. Nat. Ser. V, 11, 93-223.
- SUBRAMANIAN D. (1956), Studies on the control of *Fusarium* wilts of plants. Ph.D. Thesis, University of Madras, Madras.
- SUNDARESHWARAN P., GOVINDAIAH, SRINIVASAN E. B., JOLLY M. S. (1988), Effect of leaf rust on the nutritional composition of mulberry (*Morus alba* L.). Indian J. Seric., 27(2), 159-160.

CHANGEMENT DE LA COMPOSITION EN ELEMENTS CHIMIQUES DES FEUILLES DE MURIER (*MORUS ALBA* V. S-54) INFECTEES PAR DES PATHOGENES FOLIAIRES

M.P. SHREE & N.N UMESH KUMAR

Plant Pathology Section, Department of Sericulture, Bangalore University, P.K. Block,
Bangalore 560 009, Inde.

*Des variations dans la composition élémentaire des feuilles de mûriers (*Morus alba* L. var. S-54) atteintes par le mildiou (l'organisme responsable étant *Phyllactinia corylea*), la tache (organisme responsable : *Cercospora moricola*) et la rouille (organisme responsable : *Aecidium mori*) ont été observées. Des 22 éléments analysés (Cu, Pb, Zn, Ni, Co, Mo, Sn, W, Zr, Ag, Sb, As, Bi, Cr, V, Ba, Sr, Ga, Be, Y, La et Nb), 13 d'entre eux sont affectés (Ba, Cr, Cu, Ga, Pb, Mo, Ni, Ag, Nb, Sn, V, Y et Zr) par les infections fongiques ; alors que les taux des 9 autres éléments (Sb, As, Be, Bi, Co, La, Sr, W et Zn) restent inchangés. Les trois infections augmentent le contenu en Vanadium et diminuent les contenus en Cuivre, Molybdène, Gallium et Yttrium. La tache et la rouille entraînent une augmentation significative des contenus en Argent des feuilles malades alors que le mildiou augmente de façon significative le contenu en Nickel.*

INTRODUCTION

Le mûrier représente la nourriture de base du ver à soie *Bombyx mori*. Il existe un grand nombre de maladies qui affectent la croissance normale du mûrier, tel que le mildiou causé par *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst, la tache des feuilles causée par *Cercospora moricola* Cooke et la rouille provoquée par *Aecidium mori* (Berel) Syd et Butler. Parmi toutes ces maladies, le mildiou et la rouille sont causées par des biotrophes. L'étude de la nutrition de l'hôte et du pathogène est importante. La connaissance de la nutrition des agents pathogènes de la plante n'a pas uniquement un intérêt académique mais peut être utile aussi dans certains cas pour trouver des mesures de lutte précises. Les aspects nutritionnels de la relation hôte-parasite ont été discutés de façon détaillée (Garber, 1954, 1956).

La fourniture au bon moment des quantités nécessaires d'éléments peut donner un bon rendement en feuilles de mûrier qui peuvent également être supérieures du point de vue nutritionnel. Des agents pathogènes fongiques sont connus pour utiliser certains des éléments présents chez l'hôte pour leur propre croissance (Mehrotra, 1985). Jusqu'à présent, des essais ont été réalisés afin de déterminer les variations dans les constituants biochimiques tels que les phénols totaux, les protéines, les sucres, les acides aminés, etc., des plantes saines et malades. Des caractéristiques cyto-histologiques de malformations dans les racines de mûriers provoquées par des métaux lourds tels que le Cadmium, le Cuivre et le Zinc ont été décrites par Kuno (1984). Il a également étudié les effets des métaux lourds tels que le Cadmium, le Cuivre et le Nickel sur les taux photosynthétiques et sur la morphogénèse des feuilles de mûriers mais il n'existe pas de publication récente sur les variations dans la composition élémentaire de l'hôte et, plus précisément chez le mûrier, due à l'infestation fongiques. On a donc jugé qu'il était préférable de rechercher les changements post-infectieux dans la composition élémentaire des feuilles de mûrier affectées par des agents pathogènes fongiques.

MATERIELS ET METHODES

Les feuilles atteintes de mildiou, de taches et de la rouille et les feuilles saines de la variété S-54 ont été ramassées au Germplasm Bank du Jnana Bharathi Campus, à l'université de Bangalore en décembre 1988. Les échantillons de feuilles ont été minutieusement lavés avec de l'eau distillée, 0.1 % d'HCl, puis avec de l'eau courante et essuyées. Les feuilles ont été coupées en petits morceaux et séchées à 65 °C dans un four. On a placé 20 mg de l'échantillon dans un creuset en porcelaine que l'on a placé dans un four à 800 °C afin d'obtenir des cendres. Les cendres, auxquelles on a ajouté 20 mg de charbon, ont été pilées dans un mortier avec un pilon. Les échantillons ont ensuite été placés dans une électrode de graphite pur et analysés à l'aide du spectrographe à cendres de Jassal (fabriqué aux USA) afin d'obtenir le spectre des 22 éléments suivants sur la carte spectrographique, à savoir : Antimoine, Arsenic, Barium, Beryllium, Bismuth, Chrome, Cobalt, Cuivre, Gallium, Lanthanum, Plomb, Molybdène, Nickel, Niobium, Argent, Strontium, Etain, Tungstène, Vanadium, Yttrium, Zinc et Zirconium. Les résultats sont exprimés en ppm pour un échantillon de 20 mg. Les données sont analysées statistiquement à l'aide du test t.

RESULTATS

Les variations dans la composition élémentaire entre des feuilles saines et des feuilles infectées par le mildiou, la tache et la rouille sont données dans le tableau I. Des 22 éléments analysés, 13 sont affectés par l'infestation fongique alors que la composition des 9 autres éléments, à savoir : Antimoine, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Strontium, Tungstène et Zinc reste inchangée. Ces trois infections augmentent le contenu en Vanadium et diminuent les contenus en Cuivre, Molybdène, Gallium et Yttrium ($P < 0.001$).

On a constaté une augmentation des contenus en Chrome, Nickel, Etain, Vanadium due au mildiou ; il y a une augmentation considérable des contenus en Chromium, Nickel et Etain. L'infection entraîne une diminution des contenus en Cuivre, Gallium, Plomb, Molybdène, Argent, Yttrium et Zirconium, le Cuivre ayant subi la plus forte diminution. Cependant, on ne constate pas de variation des contenus en Antimoine, Arsenic, Barium, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Niobium, Strontium, Tungstène et Zinc entre les feuilles infectées et les feuilles saines.

Une augmentation est observée chez les feuilles infectées par la tache comparées aux feuilles saines. On note une forte augmentation des contenus en Barium, Plomb et Argent. L'infection provoque une diminution des taux de Chrome, Cuivre, Gallium et Molybdène ($P < 0.001$). La réduction en Chrome est significative. La maladie n'a aucun effet sur les contenus en Antimoine, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Nickel, Niobium, Strontium, Etain, Tungstène, Zinc et Zirconium.

On note une augmentation des contenus en Barium, Plomb, Niobium, Argent, Vanadium et Zirconium dans les feuilles de mûriers atteintes de la rouille ; l'augmentation des contenus en Barium et Argent est significative. Seul les contenus en Chrome, Cuivre, Gallium, Molybdène, Nickel et Yttrium subissent une baisse due à l'infection. On a constaté une forte diminution du contenu en Chrome. L'infection n'a pas modifié les contenus en Antimoine, Arsenic, Beryllium, Bismuth, Cobalt, Lanthanum, Strontium, Etain, Tungstène et Zinc.

DISCUSSION

On sait que les champignons dépendent de 17 éléments pour satisfaire leurs besoins nutritionnels. Il s'agit du Carbone, de l'Hydrogène, de l'Oxygène, de l'Azote, du Potassium, du Phosphore, du Calcium, du Soufre, du Magnésium, du Fer, du Manganèse, du Zinc, du Cuivre, du Molybdène, du Scandium, du Vanadium et du Gallium.

Le Gallium et le Vanadium sont utilisés par peu de champignons (Mehrotra, 1985). Les études de Raulin sur *Aspergillus niger* en 1869 montrent que le Zinc est un des micro-éléments essentiels. Les champignons n'ont besoin que d'une très faible quantité de Cuivre. Il peut jouer un rôle dans le métabolisme de la chlorophylle (Mehrotra, 1985). Le rôle du Molybdène dans le métabolisme et la croissance des champignons utilisant l'azote sous une autre forme que le nitrate n'est pas très clair.

Ce métal renforce la pectine méthyle estérase (PME) et la polygalacturonase (PG) dans les mycelliums de *Fusarium vasinfectum* (Subramanian, 1956). D'autres éléments inorganiques tels que le Cobalt, le Gallium, et le Vanadium constituent des micro-éléments essentiels. *Aspergillus niger* répond faiblement au Vanadium (Bertrand, 1941). Bien que des données indiquant l'importance du Cobalt aient souvent été signalées (Marston, 1952), on ignore si celui-ci est nécessaire pour la croissance fongique. Chez les actinomycètes, les bactéries et les animaux, le Cobalt est reconnu comme étant essentiel pour la synthèse des composés du groupe de la vitamine B12.

La façon la plus simple d'expliquer la chute de certains éléments dans cette étude est qu'ils sont utilisés par les agents pathogènes fongiques pour leur croissance. L'augmentation observée pour certains contenus peut être due à des augmentations de synthèse ou les agents pathogènes fongiques eux-mêmes sont composés de ces éléments (lorsqu'on analyse les tissus malades, le contenu de l'hôte ainsi que celui du champignon sont pris en compte ensemble). Sundareshwaran et coll. (1988) ont constaté une augmentation du contenu total en minéraux dans les feuilles de mûriers infectées par la rouille.

VARIETAL DIFFERENCES AND CORRELATION STUDIES IN THE NUTRITIONAL COMPOSITION OF THE MULBERRY

M. A. QADER

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Baliapukur, Ghoramara, Rajshahi 6100, Bangladesh.

Nutritional assessments of the varietal differences and interrelationships among the protein and other nutritional components were evaluated on 22 cultivars of mulberry. Highly significant nutritional variation was observed in most of the components studied except reducing sugar content. Highest crude protein (21.40 %), total sugar (2.66 %), starch (12.09 %) and soluble carbohydrate (14.73 %) contents were found in an exotic cultivar S799, whereas maximum moisture (76.64 %), reducing sugar (0.98 %) and mineral (15.06 %) contents were observed in a local variety BSRM-4 and Telia and an exotic cultivar Lup-40 respectively. Simple correlation study indicated that nutritional components are closely interrelated with each other and that starch and soluble carbohydrates are significantly positively correlated with protein content. Partial and multiple correlation studies also reveal that soluble carbohydrate and starch contents strongly influence the protein content of mulberry leaves.

Keywords : Mulberry varieties, nutritional components, correlation.

INTRODUCTION

The mulberry leaf is used as food for rearing silkworm, *Bombyx mori* L. larvae. Growth and development of silkworm larvae and subsequent cocoon crop production depend mainly on the nutritional composition of the mulberry leaf (Krishnaswami *et al.*, 1971 ; Bhuyian, 1981). Protein is the main constituent of mulberry leaf which plays a vital role for development of silkgland 0.16 million times (Qader, 1987) from its initial stage during the larval period. Fukuda *et al.* (1959) reported that about 70 % of the silk protein produced by the silkworm is directly derived from the protein of the mulberry leaves. It was also reported that higher carbohydrate content of the mulberry leaves is favourable for the healthy growth of the silkworm larvae (Anonymous, 1975 ; Kishi, 1954). There are many varieties of mulberry plants, leaves of which differ in their nutritional value. Very little work was done (Hassanein and Shaawary, 1962 ; Krishnaswami *et al.*, 1970a) on these aspects but no information is available on the correlation coefficients in the nutritional composition in the mulberry.

An attempt was therefore made to study the nutritional variability among the varieties and interrelationships among different nutritional components of the mulberry.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-two mulberry varieties including local (BSRM- 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 16, 23, Telia, Dudhia, Lal bombay and Sada bombay) and exotic (Kanva, C776, S1, S799, Lup-40, Jing and Kosen) were used for this study. The experiment was conducted at the Bangladesh Sericulture Research and Training Institute (Rajshahi) in 1987 in a randomised complete block design with three replications. There were six rows for each entry in a replication. The distance between plants within a row and that between rows were 60 cm. Normal cultural operations were practiced as and when necessary. Leaf

samples were collected four times synchronized with four commercial silkworm rearing seasons practiced in Bangladesh in 1988. The four seasons were as follows: a) February-March, b) April-May, c) August-September and d) November-December. Ten plants were randomly selected for collecting leaf samples. Collected leaf samples were weighed, dried in an oven at 60 °C until constant weight was obtained and moisture content was determined. The nutritional composition of the leaves was assessed by estimating crude protein, total sugar, reducing sugar, starch and soluble carbohydrate contents according to the procedures of AOAC (1980). The simple, partial and multiple correlation coefficients were computed according to Steel and Toorie (1960) and Singh and Chaudhury (1979).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean measurements of the nutritional composition of different mulberry varieties over four seasons are presented in Fig. 1. From the figure it is seen that the varieties were significantly different from one another with respect to nutrient contents. The maximum moisture (76.64 %) content was observed in a local variety, BSRM-4, followed by BSRM-16 (76.06 %) and an exotic cultivar S799 (74.28 %) respectively, whereas the minimum was found in BSRM-6 (70.92 %). The highest crude protein (21.40 %), total sugar (2.66 %), starch (12.09 %) and soluble carbohydrate (14.73 %) contents were found in an exotic cultivar S799, whereas the lowest crude protein content (16.01 %) was found in Lal bombay, total sugar (1.19 %) content in Dudhia, starch (9.17 %) and soluble carbohydrate (10.47 %) in BSRM-7 respectively. The maximum reducing sugar (0.98 %) content was observed in a local cultivar Telia followed by BSRM-1 (0.80 %) and BSRM-10 (0.79 %) respectively. Higher mineral content (15.06 %) was found in an exotic cultivar Lup-40 whereas lower (9.25 %) was found in BSRM-5. From the figure it was found that large variations of nutritional compositions existed among the varieties. More or less similar results were reported by Hassanein and Shaawary (1962).

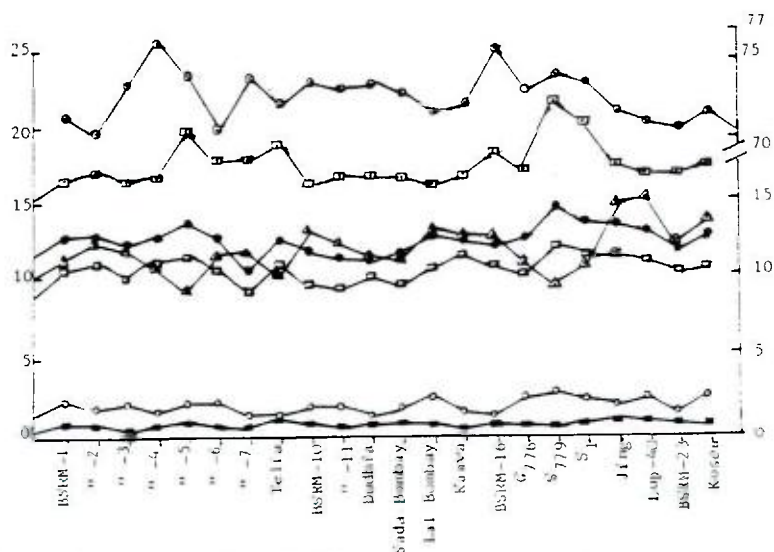


Fig. 1 : Nutritional composition of different mulberry varieties over four seasons.

■—■ Crude protein ; □—□ Starch ; ■—■ Reducing sugar ;
 ▲—▲ Mineral ; ○—○ Total sugar ; ●—● Moisture.
 ●—● Soluble carbohydrate ;

Fig. 1 : Composition nutritive de diverses variétés de mûrier sur quatre saisons.

■—■ Protéines brutes ; □—□ Amidon ; ■—■ Sucres réducteurs ;
 ▲—▲ Minéraux ; ○—○ Sucres totaux ; ●—● Humidité.
 ●—● Hydrates de carbone solubles ;

Table I. Simple correlation coefficients among nutritive characters in mulberry.

Tableau I. Coefficients de corrélation simples entre les caractères nutritifs chez le mûrier.

Characters	Minerals (%)	Crude protein (%)	Reducing sugar (%)	Total sugar (%)	Starch (%)	Soluble carbohydrate (%)
Caractères	Minéraux (%)	Protéines brutes (%)	Sucres réducteurs (%)	Sucres totaux (%)	Amidon (%)	Hydrates de carbone solubles (%)
Moisture	-0.0017	0.1246	0.0127	-0.2199	-0.0129	-0.1013
Humidité						
Mineral		0.6036**	0.0944	-0.1436	-0.1849	-0.0800
Minéraux						
Crude protein			0.3116	0.1777	0.5492**	0.5290**
Protéines brutes						
Reducing sugar				0.1208	0.3429	0.0687
Sucres réducteurs						
Total sugar					0.2706	0.6655**
Sucres totaux						
Starch						0.7266**
Amidon						

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

The simple correlation coefficients estimated among seven nutritional components of the mulberry leaf are presented in Table I. The estimated correlation coefficients reveal that the moisture content was positively associated with protein and reducing sugar but negatively associated with mineral, total sugar, starch and soluble carbohydrate contents. The mineral content showed a significant negative correlation with the protein content. Significant positive correlations were also found between protein and starch (0.5492**), between total sugar and soluble carbohydrate (0.6655**), between starch and soluble carbohydrate (0.7266**) and between protein and soluble carbohydrate (0.5290**) in this investigation. The results obtained suggest that nutritional components are closely interrelated with each other and directly or indirectly influenced by one another.

The partial correlation coefficients estimated by using the components that showed significant association with the protein content of mulberry leaves in simple correlation studies are presented in Table II. Soluble carbohydrate showed strong association with the protein content keeping total sugar, reducing sugar and mineral contents constant. The highest correlation coefficients (0.6050**) observed between protein and soluble carbohydrate keeping mineral content constant. However, starch content exhibited significant partial correlation with protein content when total sugar, reducing sugar and mineral contents were kept constant. Partial correlation studies thus reveal that the nutritional components soluble carbohydrate and starch are strongly associated with the protein content of mulberry leaves.

The estimates of multiple correlation coefficients of protein with starch and soluble carbohydrate contents were positive and highly significant (Table II). The protein content showed the multiple

correlation coefficients value (0.5813**) which indicated that starch and soluble carbohydrate influence the protein content more strongly than all other nutritional components studied.

Table II. Partial and multiple correlation coefficients between crude protein content and other nutritive characters in mulberry.

Table II. Coefficients de corrélation multiples et partiels entre le contenu en protéines brutes et d'autres caractères nutritifs chez le mûrier.

Character designation <i>Caractères</i>	Partial correlation coefficient <i>Coefficient de corrélation partiel</i>	Character designation <i>Caractères</i>	Partial correlation coefficient <i>Coefficient de corrélation partiel</i>	Character designation <i>Caractères</i>	Multiple correlation coefficient <i>Coefficient de corrélation multiple</i>
rAD. B	0.5627**	rAE. B	0.5298**	RA. DE	0.5813**
rAD. C	0.5586**	rAE. C	0.4959**		
rAD. E	0.2530	rAE. D	0.2838		
rAD. F	0.6050**	rAE. F	0.5585**		

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

A = Crude protein / *Protéines brutes.*

D = Soluble carbohydrate / *Hydrates de carbone solubles.*

B = Total sugar / *Sucres totaux.*

E = Starch / *Amidon.*

C = Reducing sugar / *Sucres réducteurs.*

F = Mineral / *Minéraux.*

CONCLUSION

From the foregoing results and discussion, it may be concluded that the nutritional composition of mulberry varieties differ significantly and that the exotic cultivar S799 and S₁ and local variety BSRM-5 which are nutritionally richer may be used for feeding silkworm larvae for higher silk production. Besides this, the correlation coefficients indicate that a highly complex relationship exists in the nutritional composition and also between protein and other component characters of the mulberry.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975), Textbook of Tropical Sericulture. Japan Overseas Cooperation Volunteers, Tokyo, Japan, 155-156.
 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) (1980), Methods of analysis, 13th ed., Washington D.C. 20044.
 BHUYIAN N. I. (1981), Improvement of silkworm multiplication and silk production under Bangladesh condition. Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, 60-61.
 FUKUDA T., SUDO M., MATUDA M., HAYASHI T., KUROSE T., HORIUHI M. F. (1959), Formation of silk protein during the growth of the silkworm larvae, *Bombyx mori* L. In Proceedings of the 4th Inter. Cong. Bio-Chemistry., 12, 90-112.

- HASSANEIN H. M., SHAAWARY M. F. (1962), The nutritional value of certain mulberry varieties. *J. of Silkworms*, France, 14, 211-223.
- KISHI Y. (1954), Applied studies on the soluble carbohydrates in the mulberry leaves, Part II. *Bull. Fac. of Textile Fibres.*, Japan, 1, 78-85.
- KRISHNASWAMI S., NOAMANI K. R., ASAN M. (1970 a), Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon crop production. I. Quality differences due to varieties. *Indian J. Seric.*, 9(1), 1-10.
- KRISHNASWAMI S., KUMARARAJ S., VIJAYARAGHAVAN K., KASIVISWANATHAN K. (1971), Silkworm feeding trials for evaluating the quality of mulberry leaves as influenced by variety, spacing and nitrogen fertilization. *Indian J. Seric.*, 9(1), 79-89.
- QADER M. A. (1987), Importance of mulberry leaf selection for silkworm rearing (in Bengali). *Krishi Katha*, Bangladesh Krishi Information Centre., 7, 347-349.
- SINGH R. K., CHAUDHURY B. D. (1979), *Biometrical methods in qualitative genetic analysis*. Kalyani publishers, Ludhina, India, 57-63.
- STEEL G. R. D., TORRIE J. H. (1960), *Principles and procedures of statistics*. Mac Grow Hill Book Company Inc., 183.

ETUDES DES DIFFERENCES VARIETALES ET DES CORRELATIONS DANS LA COMPOSITION NUTRITIONNELLE DU MURIER

M.A. QADER

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Baliapukur, Ghoramara, Rajshahi 6100, Bangladesh.

On a effectué une évaluation nutritionnelle des différences variétales et des corrélations entre le contenu en protéines et les autres composants nutritionnels sur 22 cultivars de mûrier. On observe une différence nutritionnelle très significative pour la plupart des composants étudiés, à l'exception des sucres réducteurs. Les contenus maximaux en protéines brutes (21,40 %), en sucres totaux (2,66 %), en amidon (12,09 %) et en hydrates de carbone solubles sont obtenus chez le cultivar exotique S799 et les contenus maximaux en humidité (76,64 %), en sucres réducteurs (0,98 %) et en minéraux (15,06 %) chez les variétés locales BSRM-4 et Telia et chez le cultivar exotique Lup-40, respectivement. L'étude de corrélation simple indique que les teneurs en composants nutritionnels sont étroitement corrélées entre elles et que les contenus en amidon et en hydrates de carbone solubles sont corrélés de manière significative et positive avec le contenu en protéines. Les études de corrélations multiple et partielle révèlent, en outre, que les contenus en hydrates de carbone solubles et en amidon influent fortement sur le contenu en protéines des feuilles de mûrier.

INTRODUCTION

La feuille de mûrier est utilisée comme aliment dans l'élevage des larves du ver à soie *Bombyx mori*. La croissance et le développement des larves de vers à soie et la production consécutive de cocons dépendent principalement de la composition nutritionnelle de la feuille de mûrier (Krishnaswami et coll., 1971 ; Bhuyian, 1981). Le contenu en protéines est l'un des principaux éléments de la feuille de mûrier et joue un rôle prépondérant dans le développement de la glande séricigène dont le volume est multiplié par 0,16 million (Qader, 1987) par rapport à son volume initial au cours de la période larvaire. Fukuda et coll. (1959) ont observé qu'environ 70 % des protéines de la soie produite par le ver à soie sont directement issus des protéines des feuilles de mûrier. Il a également été observé qu'un contenu élevé en hydrates de carbone chez les feuilles de mûrier favorise une bonne croissance des larves de ver à soie (Anonymous, 1975 ; Kishi, 1954). Il existe de nombreuses variétés de mûriers dont les feuilles diffèrent au niveau de leur valeur nutritionnelle. Très peu de recherches ont été faites (Hassanein et Shaawary, 1962 ; Krishnaswami et coll., 1970a) sur ces aspects et la documentation sur les coefficients de corrélation entre les composants nutritionnels du mûrier est inexistante.

Une étude a donc été entreprise afin d'étudier la variabilité nutritionnelle entre les variétés et les corrélations entre divers composants nutritionnels du mûrier.

MATERIELS ET METHODES

Vingt-deux variétés de mûrier, comprenant des variétés locales (BSRM-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 16, 23, Telia, Dudhia, Lal bombay et Dada bombay) et des variétés exotiques (Kanva, C776, S1, S799, Lup-40, Jing et Koscn), ont été utilisées pour cette étude. L'expérience a été conduite au Bangladesh

Sericulture Research and Training Institute (Rajshahi) en 1987 suivant la méthode des blocs aléatoires avec trois réplicats. Chaque réplicat comprend six rangées par variété. La distance entre les plants d'une même rangée et entre les rangées est de 60 cm. Les opérations culturales sont appliquées suivant les méthodes habituelles. Les échantillons de feuilles sont prélevés quatre fois de façon à coïncider avec les quatre saisons d'élevage de vers à soie pratiquées au Bangladesh en 1988. Les quatre saisons sont les suivantes : a) février-mars, b) avril-mai, c) août-septembre et d) novembre-décembre. Dix plants ont été sélectionnés au hasard pour le prélèvement des échantillons de feuilles. Les échantillons prélevés sont pesés, séchés dans un four à 60 °C jusqu'à obtention d'un poids constant et le contenu en humidité est déterminé. La composition nutritionnelle des feuilles est déterminée en évaluant les contenus en protéines brutes, en sucres totaux, en sucres réducteurs, en amidon et en hydrates de carbone selon les méthodes de l'AOAC (1980). Les coefficients de corrélations simple, partielle et multiple sont calculés d'après les méthodes de Steel et Toorie (1960) et Singh et Chaudhury (1979).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les quantités moyennes des composants nutritionnels des différentes variétés de mûrier sur les quatre saisons sont présentées dans la figure 1. Sur cette figure, on remarque que les variétés diffèrent de manière significative les unes des autres quant à leurs contenus nutritifs. Le contenu le plus élevé en humidité (76,64 %) se trouve chez la variété BSRM-4, suivi de BSRM-16 (76,06 %) et chez le cultivar exotique S799 (74,28 %), alors que le contenu minimal se trouve chez BSRM-6 (70,92 %). Les contenus les plus élevés en protéines (21,40 %), en sucres totaux (2,66 %), en amidon (12,09 %) et en hydrates de carbone (14,73 %) se trouvent chez le cultivar exotique S799, alors que les contenus minimaux en protéines brutes (16,01 %) se trouvent chez Lal bombay, en sucres totaux (1,19 %) chez Dudhia, en amidon (9,17 %) et en hydrates de carbone solubles (10,47 %) chez BSRM-7. Le contenu maximal en sucres réducteurs est observé chez le cultivar local Telia, suivi de BSRM-1 (0,80 %) et de BSRM-10 (0,79 %). Le contenu le plus élevé en minéraux (15,06 %) se trouve chez le cultivar exotique Lup-40, alors que le contenu le plus faible (9,25 %) se trouve chez BSRM-5. La figure montre qu'il existe d'importantes variations dans les compositions nutritionnelles d'une variété à l'autre. Des résultats à peu près similaires ont été obtenus par Hassanein et Shaawary (1962).

Les coefficients de corrélation simple calculés entre sept composants nutritionnels de la feuille de mûrier sont présentés dans le tableau I. Les coefficients de corrélation obtenus révèlent que le contenu en humidité est corrélé de manière positive avec les contenus en protéines et en sucres réducteurs mais qu'il est corrélé de manière négative avec les contenus en minéraux, en sucres totaux, en amidon et en hydrates de carbone solubles. Le contenu en minéraux présente une corrélation négative significative avec le contenu en protéines. Cette étude fait également apparaître des corrélations positives significatives entre les protéines et l'amidon (0,5492**), entre les sucres totaux et les hydrates de carbone solubles (0,6655**), entre l'amidon et les hydrates de carbone solubles (0,7266**) et entre les protéines et les hydrates de carbone solubles (0,5290**). Les résultats obtenus suggèrent que les composants nutritionnels sont étroitement corrélés entre eux et influent directement ou indirectement les uns sur les autres.

Les coefficients de corrélation partielle, qui sont calculés à partir des composants montrant une association significative avec le contenu en protéines des feuilles de mûrier en études de corrélations simples, sont présentés dans le tableau II. Les hydrates de carbone présentent une corrélation étroite avec le contenu en protéines, à taux constant en sucres totaux, en sucres réducteurs et en minéraux. Les corrélations les plus élevées sont obtenues entre les contenus en protéines et en hydrates de carbone (0,6050**) à taux constant en minéraux. Cependant, le contenu en amidon présente une corrélation partielle significative avec le contenu en protéines pour un taux constant en sucres totaux, en sucres réducteurs et en minéraux restent constant. Les études de corrélation partielle révèlent ainsi que les hydrates de carbone solubles et l'amidon sont fortement associés avec le contenu en protéines des feuilles de mûrier.

Les coefficients de corrélation multiple entre les contenus en protéines et les contenus en amidon et en hydrates de carbone solubles sont positifs et fortement significatifs (Tableau II). La valeur du coefficient de corrélation multiple (0,5813**) obtenue pour le contenu en protéines indique que

l'amidon et les hydrates de carbone influent plus fortement sur le contenu en protéines que tous les autres composants nutritionnels étudiés.

CONCLUSION

Les résultats et la discussion qui précèdent permettent de conclure que la composition nutritionnelle diffère de manière significative d'une variété de mûrier à l'autre et que les cultivars exotiques S799 et S1 et la variété locale BSRM-5, qui sont plus riches du point de vue nutritionnel, peuvent être utilisés pour nourrir les larves de ver à soie et obtenir un rendement en soie plus élevé. En outre, les coefficients de corrélation indiquent qu'il existe une relation extrêmement complexe dans la composition nutritionnelle entre le contenu en protéines et les autres composants nutritifs du mûrier.

STUDIES ON THE SEED STORAGE AND SEED VIABILITY OF THE MULBERRY (*MORUS* SPP.)

S. B. DANDIN, BASAVIAH & M.V. RAJAN

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

Experiments were conducted with five accessions of mulberry to test the storage life of seed at 5 °C, 25 °C and room temperature. Air-dried seeds were kept in polythene bags and stored in desiccators containing anhydrous calcium carbonate and held at the said three temperatures. Generally the seeds stored at room temperature (28 ± 2 °C) retained viability longer than the samples stored at 25 °C and 5 °C. After 15 months of storage, the percentage of seeds germinated was 76 to 92 % in room temperature storage and 33 to 65 % in 25 °C storage while it was zero in 5 °C storage in all the five accessions studied. Though cold storage can maintain the seed vigour up to six or seven months, it affects adversely the viability during continued storage. Germination was quicker when seeds were fresh (up to nine months of storage) and it was prolonged as they became older, indicating a loss of vigour during long periods of storage. The results clearly indicate that seed viability and seed vigour in mulberry are genotype specific.

Keywords : Mulberry, seed storage, seed viability.

INTRODUCTION

The mulberry, an economically important plant for the sericulture industry, is chiefly propagated vegetatively. In tropical countries like India and Bangladesh, stem cuttings are used, whereas in temperate countries various methods of grafting are used for field propagation. Vegetative methods of propagation have several advantages over sexual means owing to the heterozygous nature of the crop. However, breeding programmes are dependent on sexual reproduction to generate useful variation which is the basis of improvement. In addition, for propagation through grafting, rootstocks are raised from seeds and as such seed propagation is imperative. But a review of literature indicates paucity of information on various aspects of seed biology such as seed storage, viability and the influence of environmental conditions on seed health. Previous reports by Prahallada Rao *et al.* (1963) and Kasiviswanathan and Iyengar (1970) indicated that seed viability is acceptable for four to six months of storage. Prem Gupta (1988) working with only one variety (Kanva-2) observed that the seeds could be safely stored for a period of eight months at lower temperatures. And in the mulberry due to the high level of genetic variability, generalizations should not be made based on the observations of one or two genotypes. Therefore, a detailed project on the seed biology of *Morus* was initiated to investigate these various aspects. The following report results from this project.

MATERIALS AND METHODS

Seeds of five germplasm varieties (accessions) namely, Assamabola (Acc. 105), Ver-S₁ (Acc. 139), Kanva-2 (Acc. 145), Exotic Variety (Acc. 152) and S₃₀ (Acc. 156) representing a diverse sample of genotypes were used. Fully ripened fruits of open pollinated flowers were harvested for seed during December 1986 and January 1987. Seeds were separated by squashing and kneading the fruits in

water and pulp and empty seeds were discarded by floatation. After drying the seeds in shade, they were kept in polythene bags. These bags were stored in dessicators containing anhydrous calcium carbonate and held at three temperatures namely 5 °C, 25 °C and room temperature (28 ± 2 °C). During storage, samples were drawn at 15 day intervals for germination studies. In each batch, 100 seeds in two replicates were sown on Whatman No. 3 filter paper discs placed in petridishes. The discs were moistened regularly with distilled water. All the petridishes were kept at room temperature under a cover of black paper. Observations on germination were recorded on 3rd, 7th and 11th day after sowing. The percentage values underwent angular transformation for statistical analysis. The data was analysed using a two-way classification model (Fisher and Yates, 1982).

RESULTS

The average percentage germination of all five varieties at three month storage intervals and 3rd, 7th and 11th days after sowing in each interval with respect to three storage temperatures are given in Table I. The data are statistically analysed and the angular transformed values are given in parentheses. For each variety the percentage of seeds germinated at three month storage intervals (average of six batches of sowing) are represented by bar diagrams separately for room temperature, 25 °C and 5 °C storage. The rate of germination is represented by dividing each bar into 3rd, 7th and 11th day germination (Fig. 1). It can be seen from Table I and Fig. 1 that the shortest time taken for germination is three days and the majority of the seeds germinated in seven days after sowing. In most cases germination was almost complete by the 11th day. Germination was quicker and 50 % seeds germinated on the fifth day when seeds were fresh (up to nine months of storage), but later, 50 % germination was delayed to 7th or 9th day after sowing.

Genotypes and seed germination

Among the genotypes, remarkable differences were found in the germination rate as well as percentage. Assamabola (Acc. 105) showed the highest rate of germination and Kanva-2 (Acc. 145) showed the lowest. The remaining three accessions showed similar trends both in rate and percentage of seed germination. In all the genotypes except the exotic variety (Acc. 152), seeds stored in ambient temperature showed improvement after the 12th month of storage (Fig. 1). There is a considerable effect of storage temperature on the viability of seed and the degree varies with genotypes.

Storage temperature and viability

The average percentages of seed germination for all the five accessions at each storage temperature are presented in Fig. 1. Seeds stored at room temperature lived longer than those stored at 25 °C and 5 °C. Seeds stored at 5 °C showed a higher percentage of germination (Table I) compared to higher storage temperatures up to six months and the number of days taken for germination of 50 % seeds was also less. After six months the results were quite different. Seeds stored at room temperature showed the highest percentage of germination after 12 months of storage followed by those stored at 25 °C. Seeds stored at 5 °C quickly lost viability. But seeds stored at room temperature showed 76-92 % viability and seeds stored at 25 °C showed 33-65 % viability. For all genotypes except Acc. 152, seeds stored at room temperature showed improvement in germination after 10 months of storage.

DISCUSSION

In most perennial crops, seed viability and storage play an important role in their propagation. When flowering and fruiting are controlled by the photoperiodic cycle, seed harvest and sowing become seasonal. Hence, storing of seeds in appropriate condition till sowing time is imperative. For many of the economically important tree species, suitable methods have been worked out for storage and germination. However, information for mulberry is fragmentary.

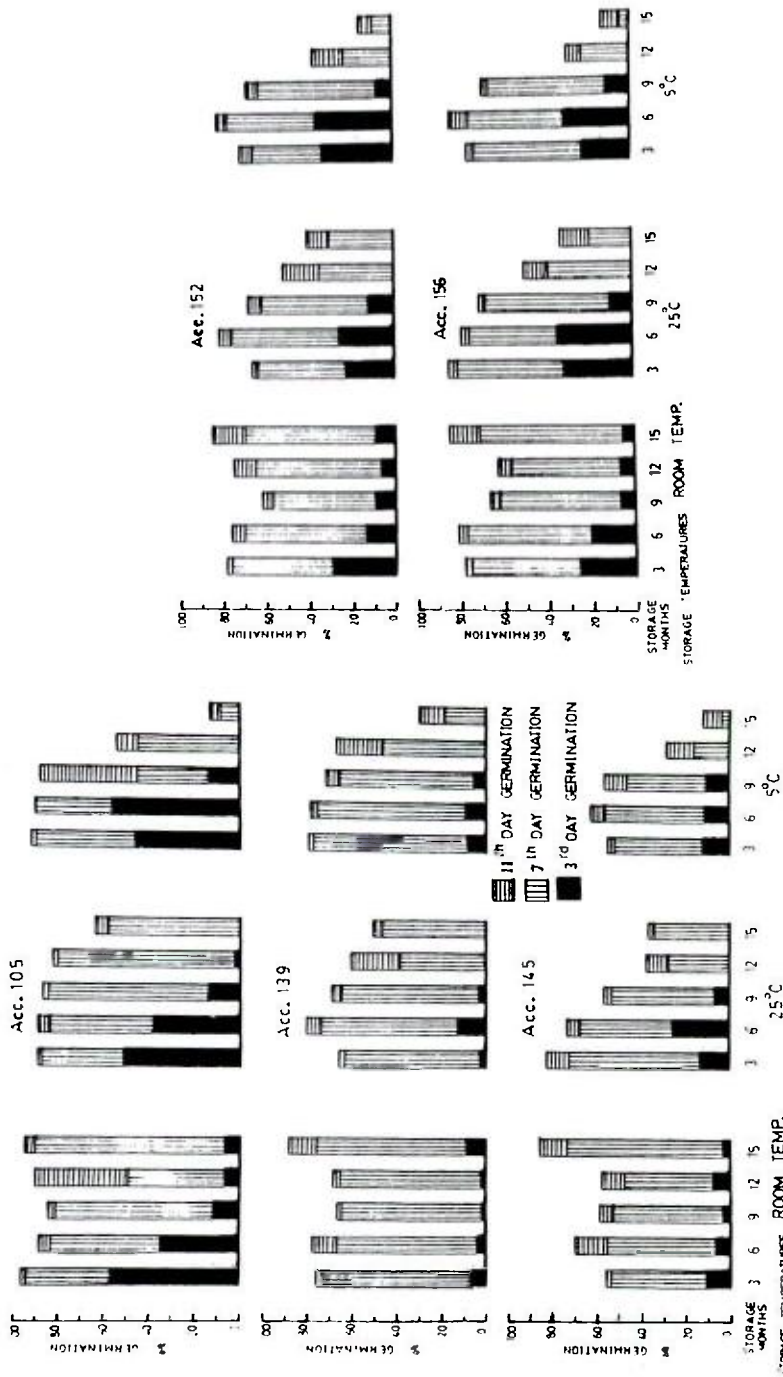


Fig. 1 : Dendrograms showing the seed germination percentage in five mulberry varieties at 3, 6, 9, 12 and 15 months of storage intervals and stored in three temperatures.
 Fig. 1 : Dendrogrammes montrant le pourcentage de germination des graines de cinq variétés de mûrier après des périodes de conservation de 3, 6, 9, 12 et 15 mois à trois températures.

Table I. Average germination percentage of all five varieties at three months storage intervals and 3rd, 7th and 11th days after sowing in each interval with respect to three storage temperatures.

Tableau I. Pourcentage moyen de germination des cinq variétés après des périodes de conservation de trois mois et 3, 7 et 11 jours après la semence pour chacune des périodes en fonction de trois températures de conservation.

Day after sowing Jour suivant la semence	Storage temperature Température de conservation	Storage intervals (in months) Périodes de conservation (en mois)				
		3	6	9	12	15
3rd day 3e jour	RT	26.16	16.07	6.87	5.67	5.20
		(29.23)	(22.07)	(10.98)	(11.34)	(9.95)
	25 °C	24.58	27.53	9.27	0.53	0.13
		(27.34)	(30.80)	(15.21)	(2.39)	(0.54)
	5 °C	24.61	30.36	9.5	0.13	0.0
		(28.46)	(32.29)	(16.70)	(0.54)	(0.0)
7th day 7e jour	RT	75.81	71.17	63.87	56.17	76.44
		(62.67)	(58.21)	(53.44)	(53.60)	(61.72)
	25 °C	69.99	75.84	67.72	44.83	33.66
		(57.50)	(61.20)	(55.94)	(41.75)	(35.07)
	5 °C	72.58	75.29	66.17	52.1	9.5
		(59.78)	(61.12)	(54.67)	(43.05)	(12.63)
11th day 11e jour	RT	76.25	78.59	80.75	70.96	87.90
		(63.36)	(63.12)	(67.20)	(57.20)	(71.13)
	25 °C	75.72	80.93	70.30	56.63	45.26
		(57.28)	(64.84)	(57.20)	(49.30)	(42.20)
	5 °C	74.49	84.08	70.67	43.32	16.82
		(60.66)	(64.18)	(57.90)	(40.93)	(18.53)

S.E. / Ecart type ± 2.20 ; C.D at 5 % = 6.11 ; RT = Room temperature / Température ambiante.

The figures in parentheses are angular transformed values / Les chiffres entre parenthèses sont les transformées angulaires.

Previous reports by Prahalada Rao *et al.* (1963) and Kasiviswanathan and Iyengar (1970) indicated that seed viability is acceptable for four to six months of storage and recommended only short term preservation. Prem Gupta (1988) working with only one variety (Kanva-2), observed that the rate of loss of viability was faster at room temperature than at lower temperatures. Read and Barnes (1974) have recommended sub-freezing temperatures of - 10 °C to 0 °F for storage of dry mulberry seeds. However, our results contradict the previous reports. Mulberry seeds were stored at room temperature in sealed polythene bags for more than 15 months without much loss in viability, as could be seen from 84 to 95 % germination in different accessions even after 15 months of storage. This clearly indicates the long viable period of mulberry seed. The complete loss of viability of seeds after 15 months of storage at 5 °C and low percentage of germination of seeds stored at 25 °C clearly indicate the poor storage of seeds at lower temperatures. Such chilling injury is commonly observed

among tropical and sub-tropical tree species (Graham and Patterson, 1982 ; Ezumah, 1986 and Corbineau and Come, 1988). Thus the results fall in line with the statement of Roberts (1975) that 'some of the tropical tree species may not confirm to the rule that low storage temperature enhances seed longevity'. Further our results clearly indicate that seed viability and seed vigour are genotype specific in mulberry. In addition, other factors which may affect the viability are moisture content of seed and humidity of the storage. These factors should be considered along with temperature in future studies.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the encouragement and advice given by Dr K. Sengupta, Director, and assistance of Dr S. Ravindran, Dr A. K Jain and R. Ramesh, Senior Research Assistants of the section, during this study. The authors are also grateful to Sri N. Suryanarayana, Joint Director, for his encouragement.

REFERENCES

- CORBINEAU F., COME D. (1988), Storage of recalcitrant seeds for four tropical species. *Seed Science and Technology*, 16, 97-103
- EZUMAH B. S. (1986), Germination of storage of neem (*Aadirachta indica* A. Juss.) seed. *Seed Science and Technology*, 14, 593-600
- FISHER R. A., YATES F. (1982), Statistical tables for biological, agricultural and medical research (ed. R. A. Fisher), Longman Group Ltd., England.
- GRAHAM M., PATTERSON B. D. (1982), Response of plants to low, non-freezing temperatures, protein, metabolism and acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 33, 347-372.
- KASIVISWANATHAN K., IYENGAR N. M. S. (1970), Effect of maturity of fruit, month of collection and storage on the viability of three varieties of mulberry seeds. *Indian Journal of Sericulture*, 3, 31-37.
- PRAHALADA RAO L. S., PENNIDHANA RAO T., NARAYANAN E. S. (1963), Response of mulberry seeds to gibberellic acid treatment. *Current Science*, 32, 348-349.
- PREM GUPTA (1988), Certain observations on viability of mulberry seeds (*Morus indica* L. var. Kanva-2) during storage. *International Congress on Tropical Sericulture Practices. Scientific Papers Abstracts*. Central Silk Board, Bangalore, Feb. 1988, 18-19.
- READ R. A., BARNES R. L. (1974), Moraceae - *Morus* L. *In* *Seeds of woody plants in the United States by the U.S. Dept. of Agriculture - Forest Service Agriculture Hand Book*, Washington, D. C.
- ROBERTS E. H. (1975), Problems of long-term storage of seed and pollen for genetic resources conservation. *In* *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow* (eds. O.H. Frankel and J. G. Hawkes), 269-295.

ETUDES SUR LA CONSERVATION ET LA VIABILITE DES GRAINES DE MURIER (*MORUS* SPP.)

S.B. DANDIN, BASAVIAH & M.V. RAJAN

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

Des expériences ont été menées sur cinq variétés de mûrier afin de déterminer la viabilité des graines stockées à 5 °C, 25 °C et à température ambiante. Les graines séchées à l'air sont conservées dans des sacs en polyéthylène et stockées dans des dessiccateurs contenant du carbonate de calcium anhydre et maintenus aux températures mentionnés ci-dessus. De façon générale, les graines conservées à température ambiante (28 ± 2 °C) vivent plus longtemps que les échantillons stockés à 25 °C et 5 °C. Après 15 mois de stockage, le pourcentage de germination est de 76 à 92 % pour les graines conservées à température ambiante et de 33 à 65 % pour les graines conservées à 25 °C, tandis qu'il est nul pour les graines conservées à 5 °C chez toutes les espèces étudiées. Bien que la réfrigération permette de conserver la vigueur de la graine 6 à 7 mois, elle a un effet négatif sur la viabilité lorsque la conservation est prolongée. La germination est plus rapide quand les graines sont fraîches (jusqu'à neuf mois de conservation) et se trouve prolongée quand les graines vieillissent, ce qui indique une perte de vigueur lorsque les périodes de conservation sont longues. Les résultats indiquent clairement que la viabilité et la vigueur des graines de mûrier sont spécifiques du génotype.

INTRODUCTION

Le mûrier, plante commercialement importante pour l'industrie séricicole, se reproduit surtout de manière végétative. Dans les pays tropicaux comme l'Inde ou le Bangladesh, on utilise le bouturage des tiges, alors que dans les pays tempérés diverses méthodes de greffage sont utilisées pour la reproduction. Les méthodes de reproduction végétatives présentent plusieurs avantages par rapport aux méthodes sexuées du fait de la nature hétérozygote de cette culture. Cependant, les programmes de culture dépendent de la reproduction sexuelle pour générer des variations utiles qui constituent la base de l'amélioration. De plus, pour la reproduction par greffage, les racines sont cultivées à partir des graines, ce qui rend la reproduction des graines impérative. Mais la lecture de la documentation dans ce domaine fait ressortir un manque important d'informations sur les divers aspects de la biologie des graines comme la conservation des graines, la viabilité et l'influence du milieu sur la santé des graines. Les travaux de Prahalada Rao et coll. (1963) et Kasiviswanathan et Iyengar (1970) indiquent que les graines sont viables lorsque la conservation dure entre quatre et six mois. Prem Gupta (1988), dans un travail qui portait sur une seule variété (Kanva-2), a observé qu'il était possible de conserver les graines sans risques pendant huit mois à basse température. Chez le mûrier, étant donné le niveau élevé de la variabilité génétique, il faut éviter les généralisations sur la base d'observations d'un ou deux génotypes. Un projet détaillé sur la biologie des graines de *Morus* a donc été mis en route pour étudier ces divers aspects. La présentation ci-dessous est le résultat de ce projet.

MATERIELS ET METHODES

Les graines de cinq variétés génétique (lignées), à savoir : Assamabola (Lignée 105), Ber-S1 (Lignée 139), Kanva-2 (Lignée 145), variété exotique (Lignée 152) et S30 (Lignée 156), représentant

un échantillon varié des génotypes ont été utilisés. Les fruits complètement mûrs de fleurs pollinisées librement ont été récoltés pendant les mois de décembre 1986 et janvier 1987. On sépare les graines en écrasant et en malaxant les fruits dans l'eau, la pulpe et les graines restant en suspension sont écartées. Après séchage à l'ombre, les graines sont conservées dans des sacs en polyéthylène. Ces sacs sont conservés dans des dessiccateurs contenant du carbonate de calcium anhydre et maintenus à des températures différentes : 5 °C, 25 °C et température ambiante (28 ± 2 °C). Pendant la conservation, des échantillons sont prélevés tous les quinze jours afin d'étudier la germination.

Dans chaque lot, 100 graines réparties en deux réplicats sont semées sur disques en papier filtre Whatman n° 3 placés dans des boîtes de Pétri. Les disques sont humidifiés régulièrement avec de l'eau distillée. Toutes les boîtes de Pétri sont conservées à température ambiante sous une housse en papier noir. Les observations sur la germination sont notées les 3e, 7e et 11e jours après l'ensemencement. Après transformation angulaire, les données sont analysées selon un modèle bi-dimensionnel (Fisher et Yates, 1982).

RESULTATS

Les pourcentages moyens de germination dans les différentes conditions sont donnés dans le tableau I. Les données sont analysées statistiquement et les transformées angulaires sont indiquées entre parenthèses. Pour chaque variété, le pourcentage de germination des graines à intervalles de trois mois de conservation (moyenne des six lots semés) est représenté sur les histogrammes pour la conservation à température ambiante, à 25 °C et à 5 °C (Fig. 1). Le tableau I et la figure 1 montrent que la durée minimale nécessaire à la germination est de trois jours et que la majorité des graines germent sept jours après le semis. Dans la plupart des cas, la germination est pratiquement terminée le 11e jour. La germination est plus rapide et 50 % des graines germent le 5e jour lorsque les graines sont fraîches (jusqu'à neuf mois de conservation), mais plus tard 50 % de la germination est retardée au 7e ou au 9e jour après le semis.

Génotypes et germination des graines :

On observe des différences notoires entre les génotypes pour la vitesse de germination et pour le pourcentage. Assamabola (Lignée 105) présente le taux de germination le plus élevé et Kanva-2 (Lignée 145) le plus faible. Les trois autres variétés présentent des tendances similaires aussi bien pour la vitesse que pour le pourcentage de germination des graines. Chez tous les génotypes, à l'exception de la variété exotique (Lignée 152), les graines conservées à température ambiante présentent une amélioration après le 12e mois de conservation (Fig. 1). L'effet de la température de conservation sur la viabilité des graines est considérable et l'intensité varie selon le génotype.

Température de stockage et viabilité :

Les pourcentages moyens de germination des graines chez les cinq variétés pour chaque température de conservation sont présentés dans la Fig. 1. Les graines conservées à température ambiante vivent plus longtemps que celles qui sont conservées à 25 °C et à 5 °C. Les graines conservées à 5 °C donnent un pourcentage de germination plus élevé (Tableau I) qu'aux températures de conservation supérieures jusqu'à six mois et le nombre de jours nécessaires à la germination de 50 % des graines est également moins élevé. Après six mois, les résultats sont tout à fait différents. Les graines conservées à température ambiante présentent le pourcentage de germination le plus élevé après 12 mois de conservation suivi des graines à 25 °C. Les graines conservées à 5 °C perdent leur viabilité rapidement, tandis que les graines conservées à température ambiante ont une viabilité de 76 à 92 % et les graines conservées à 25 °C ont une viabilité de 33 à 65 %. Pour tous les génotypes, sauf la lignée 152, les graines conservées à température ambiante présentent une amélioration de la germination après 10 mois de conservation.

DISCUSSION

Dans la plupart des cultures vivaces, la viabilité et la conservation des graines jouent un rôle important dans leur reproduction. Quand la floraison et la fructification sont régulées par le cycle

photopériodique, la récolte et la semence des graines deviennent saisonnières. Ainsi, la conservation des graines dans des conditions adaptées est impérative jusqu'à l'époque de la semence. Pour de nombreuses espèces d'arbres d'intérêt économique, on a mis au point des méthodes appropriées de conservation et de germination. Cependant les informations sur le mûrier restent fragmentaires.

Dans des travaux antérieurs, Prahalada Rao et coll. (1963) et Kasiviswanathan et Iyengar (1970) indiquent que les graines restent viables pendant quatre à six mois de conservation et recommandent uniquement la conservation à court terme. Prem Gupta (1988) a observé sur la variété Kanva 2 que le taux de viabilité diminuait plus rapidement à température ambiante qu'à des températures plus basses. Read et Barnes (1974) prouvent l'utilisation de températures négatives de -10 °C à 0 °C pour conserver les graines de mûrier sèches. Cependant, nos résultats contredisent ces travaux. Les graines de mûriers ont été conservées à température ambiante dans des sacs en polyéthylène hermétiques pendant plus de 15 mois sans occasionner d'importantes pertes de viabilité, ainsi que le montre la germination de 84 à 95 % pour les différents lots étudiés, même après quinze mois de conservation. Ceci montre clairement que les graines de mûriers ont une longue période de viabilité. La perte totale de viabilité des graines après 15 mois de conservation à 5 °C et le faible pourcentage de germination des graines conservées à 25 °C indiquent clairement l'effet médiocre d'une conservation à basse température sur les graines. On observe couramment la nocivité du refroidissement chez les espèces d'arbres tropicales et sub-tropicales (Graham et Patterson, 1982; Ezumah, 1986; Corbineau et Come, 1988). Ces résultats corroborent les observations de Roberts (1975) qui remarque qu'"il est possible que certaines espèces d'arbres tropicales ne se conforment pas à la règle selon laquelle la conservation à basse température favorise la longévité de la graine". De plus, nos résultats montrent clairement que la viabilité des graines et leur vigueur sont spécifiques du génotype. En outre, d'autres facteurs qui pourraient affecter la viabilité sont le contenu des graines en humidité et l'humidité du lieu de stockage. Ces facteurs devraient être pris en compte parallèlement à la température dans des études ultérieures.

STABILITE PHENOTYPIQUE CHEZ LE MURIER

J.E. ALMEIDA, A.R. SOARES*, M.A.P. RAMALHO* & T.C. FONSECA

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

La production de feuilles et la stabilité phénotypique ont été évaluées pour vingt variétés de mûrier (Morus alba L.) à l'Estação Experimental de Sericicultura de Limeira (S.P.). Les données concernant le poids frais, le poids sec, le nombre et le poids des branches ont été relevées pendant neuf récoltes (saisons). On a estimé le coefficient de régression (b_i), la déviation de régression (s^2_{di}) et le coefficient de variation entre les saisons (CV %). Les variétés IZ-19/13 et IZ-64 sont plus productives mais avec $b_i > 1$ et $s^2_{di} > 0$. La variété IZ-19/13 présente un coefficient de variation inférieur à la moyenne des variétés (49,79 %), contrairement à la variété IZ-64 qui présente un CV plus fort (74,19 %), ce qui indique que le coefficient de variation permet d'identifier plus facilement les variétés les plus stables parmi les variétés à haut rendement.

Mots-clés : Stabilité phénotypique, mûrier, génétique.

INTRODUCTION

L'augmentation de la productivité de la sériciculture peut se faire, en autres, par l'utilisation des variétés de mûrier (*Morus alba* L.) dont la production est supérieure. De nombreux travaux ont été réalisés sur ce thème (Abdullaev et coll., 1969 ; Fonseca et coll., 1986, 1987a, 1987b, 1987c). Le mûrier étant une espèce dioïque propagée de manière végétative, les chercheurs adoptent la même méthode qui consiste à hybrider des plantes porteuses des caractéristiques favorables et, ensuite, à sélectionner les variétés. Le but de cette hybridation est de réunir, dans une seule plante, les caractéristiques recherchées, contenues auparavant dans différentes plantes. Les hybrides obtenus sont multipliés de manière végétative afin de constituer de nouveaux clones, lesquels permettent de disposer de tous les types géniques.

Cependant, l'influence des facteurs saisonniers rend difficile les travaux de sélection car, à l'exception de quelques caractéristiques comme la taille et la forme de la feuille et la longueur du pétiole qui sont peu influencées par les facteurs saisonniers, les autres caractéristiques, de nature quantitative, comme la production de feuilles et de branches, peuvent présenter d'importantes variations d'une saison à l'autre (Fonseca et Vencovsky, 1981).

Cette interaction du génotype et de la saison détermine l'existence de génotypes spécifiques pour chaque saison et rend difficile le choix d'un génotype déterminé présentant des performances moyennes supérieures (Vencovsky, 1978 ; Jones et Mather, 1958 ; Buccio Alanis, 1966 ; Buccio Alanis et Hill Jr., 1966 ; Breese, 1969).

Pour obtenir une sélection plus efficace, il est nécessaire de connaître la nature et l'amplitude de l'interaction génotype-saison et, dans la mesure du possible, sélectionner des génotypes plus stables, c'est-à-dire présentant moins de variation de comportement d'une saison à l'autre (Eberhart et Russel, 1966).

* Professeurs, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Brésil.

Chez le mûrier, en plus d'une grande production de feuilles, il est souhaitable d'obtenir des fluctuations faibles entre les coupes d'une même année agricole et entre différentes années. Il faut donc des matériaux stables pour obtenir une production constante de feuilles par hectare de mûriers.

Plusieurs méthodes ont été proposées pour évaluer la stabilité phénotypique (Eberhart et Russel, 1966 ; Francis et Kannenberg, 1978), celles-ci pouvant s'adapter au type de matériel étudié et au concept de stabilité adopté (Lin et coll., 1986). Pour évaluer la stabilité de la production de feuilles chez les clones de mûrier au cours des coupes, on admet le concept biologique de la stabilité. On a établi une comparaison entre les différentes saisons en étudiant les paramètres statistiques suivants : coefficient de régression (b_i), écart de régression (s^2_{di}) et coefficient de variation au cours des saisons.

Le but de ce travail est d'évaluer la stabilité phénotypique de la productivité en feuilles au cours des récoltes successives chez quelques variétés de mûrier prometteuses.

MATERIEL ET METHODES

L'expérience a été réalisée à l'Estação Experimental de Sericicultura de Limeira (S.P., Brésil) au cours de la période 1983-1987 par la méthode des blocs aléatoires avec cinq réplicats, vingt traitements, soit 19 variétés prometteuses de mûriers (obtenues par le programme de sélection de l'Institut de Zootecnia dénommé IZ) et la variété *calabresa* (témoin). Les parcelles sont composées chacune de quatre plants espacés de 1,00 m x 1,50 m. Trois récoltes ont été faites dans les trois années agricoles de 1984-85, 1985-86 et 1986-87 (on ne tient pas compte des productions de l'année 1983-84). Ce sont par conséquent neuf récoltes qui constituent les saisons.

Les feuilles ont été récoltées individuellement sur chaque plant pour obtenir les données concernant le poids frais et le poids sec, le poids et le nombre de branches. Le poids sec des feuilles est calculé à partir d'un échantillon de 200 g.

L'analyse des données obtenues suit le schéma de la sub-division dans le temps des parcelles dans lequel les variétés constituent les parcelles et les récoltes les sous-parcelles (Steel et Torrie, 1980).

Le modèle mathématique adopté est le suivant :

$$Y_{ijk} = m + g_i + b_k + (gb)_{ik} + c_j + (cb)_{jk} + (gc)_{ij} + e_{ijk}$$

où :

Y_{ijk} = variable observée pour la variété i au cours de la récolte j dans le bloc k ,

m = moyenne générale de l'expérience,

g_i = effet de la variété i (fixe),

b_k = effet du bloc k (aléatoire),

(gb) = effet de l'interaction variété/bloc (erreur a),

c_j = effet de la récolte j (aléatoire),

(cb) = effet de l'interaction récolte/bloc (erreur b),

gc = effet de l'interaction variété/récolte,

e_{ijk} = erreur expérimentale moyenne (erreur c).

La stabilité phénotypique est évaluée selon la méthodologie d'Eberhart et Russell (1966). Les coefficients de régression (b_i) et de déviation de la droite de régression (s^2_{di}) sont déterminés à l'aide des formules suivantes :

$$b_i = \frac{\sum_{j=1}^J Y_{ij} (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})}{\sum_{j=1}^J (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})^2} ; \quad s^2_{di} = \frac{\sum_{j=1}^J (Y_{ij}^2 - \bar{Y}_{i.}^2) - \frac{\left[\sum_{j=1}^J Y_{ij} (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..}) \right]^2}{\sum_{j=1}^J (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})^2}}{(J - 2)}$$

où :

Y_{ij} = donnée observée pour la variété i dans la récolte j ,

$\bar{Y}_i$ = moyenne de la variété i dans toutes les récoltes,

$\bar{Y}_j$ = moyenne de toutes les variétés dans la récolte j ,

$\bar{Y}_{..}$ = moyenne générale de toutes les variétés dans toutes les récoltes.

La signification des coefficients de régression et des écarts de régression est déterminée à partir du test t (Steel et Torrie, 1980).

On détermine également les coefficients de variation (% CV) entre les saisons (Francis et Kannenberg, 1978 ; Lin et coll., 1986) selon la formule suivante :

$$(CV_i \%) = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^J (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2}{(J-1)}}}{\bar{Y}_i} \times 100$$

On a également évalué les coefficients de corrélation de Spearman pour les vingt variétés au cours des neuf récoltes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats montrent qu'il existe des différences significatives dans la production moyenne des variétés (Tableau I) pour toutes les variables. Ceci indique qu'il est possible d'améliorer la sélection au niveau des parcelles même pour les coefficients de variation à valeur forte.

Tableau I. Résumé de l'analyse de variation du poids frais et du poids sec des feuilles (g), du nombre et du poids (g) des branches par plant chez vingt clones de mûrier obtenus pendant les neuf récoltes. Limeira (SP), 1984-1987.

Table I. Summary of the variation analysis of leaf fresh and dry weights (g), of branch number and weight (g) per plant in 20 mulberry clones obtained during the nine crops. Limeira (SP), 1984-1987.

Source de variation <i>Source of variation</i>	DL <i>DF</i>	Carrés moyens / Mean squares			
		Poids des feuilles <i>Leaf weight</i>		Branches <i>Branches</i>	
		Frais <i>Fresh</i>	Sec <i>Dry</i>	Nombre <i>Number</i>	Poids <i>Weight</i>
Blocs / Blocks	4	273358	17660	118	102702
Clones G.	19	793776 **	77112 **	633 **	378336 **
Erreur a / Error a	76	78580	7445	44	63566
Récolte C. / Crop C.	8	8721914 **	1082585 **	691 **	8546180 **
Erreur b / Error b	32	111757	10543	48	49896
G x C	152	74574 **	8881 **	24 **	57939 **
Erreur c / Error c	608	18360	2131	14	15840
Moyenne / Average		559,00	117,32	17,30	409,96
CV (a) (%)		50,15	48,66	38,42	61,50
CV (c) (%)		24,24	26,04	22,23	30,70

CV : Coefficient de variation / Variation coefficient.

La production moyenne de feuilles obtenue est faible par rapport à d'autres travaux qui ont été réalisés sur le même matériel (Fonseca et coll., 1986, 1987a, 1987b, 1987c). Par ailleurs, les coefficients de variation présentent des valeurs acceptables pour les parcelles comme pour les sous-parcelles utilisables dans les travaux sur le mûrier.

Tableau II. Production moyenne de feuilles en g/plant, coefficients de variation entre les récoltes, coefficients de régression et déviation de régression des données pour 20 clones de mûrier obtenus pendant les neuf récoltes par rapport au clone calabresa. Limeira (SP), 1984-1987.

Table II. Average leaf production in g/plant, coefficients of variation among crops, regression coefficients and regression deviation of the data for 20 mulberry clones obtained during the nine crops as compared to clone calabresa. Limeira (SP), 1984-1987.

Clone Clone	Moyenne Average	% %	CV (%) CV %	b_i b_t	s^2_d s^2_d
IZ-5	468,2	122,8	48,91	0,7568**	14171
IZ-10	611,1	160,3	64,07	1,3119**	18194
IZ-26	503,5	132,1	61,93	1,0408	15646
IZ-30	526,3	138,0	47,12	0,8260*	10880
IZ-40	661,4	173,5	55,42	1,2128	34890
IZ-43	526,1	138,0	68,78	1,1862	46795 *
IZ-64	766,0	201,0	74,19	1,8897**	65796**
IZ-1/17	385,3	101,1	38,74	0,4955**	4944
IZ-5/2	684,7	179,6	54,62	1,2537**	15859
IZ-10/1	587,2	154,0	55,35	1,0869	14719
IZ-10/8	622,9	163,4	53,36	1,1175	9112
IZ-13/6	520,7	136,6	44,36	0,7181	55557
IZ-15/7	439,9	115,4	51,55	0,7561**	8912
IZ-19/13	844,6	221,5	49,79	1,3556	94700**
IZ-29/1	385,3	101,1	42,58	0,5412**	7830
IZ-51/1	602,4	158,0	56,10	1,1338	11924
IZ-54/5	365,4	95,9	51,74	0,6297**	6634
IZ-54/4	637,4	167,2	42,23	0,8236	75865**
IZ-57/2	660,3	137,2	50,34	1,1077	19926
Calabresa	381,3	100,0	60,93	0,7557	23741

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

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

On a constaté la présence d'une variation de production significative d'une récolte à l'autre et l'interaction variété/récolte confirme que cette variation se présente différemment suivant le matériel testé.

Les valeurs du poids frais des feuilles donnent un coefficient de corrélation élevé avec le poids sec des feuilles ($r = 0,98^{**}$), ce qui indique que le poids frais reflète parfaitement la production de matière sèche; il doit donc être choisi de préférence au poids sec pour mesurer la production. Le poids

des branches est également fortement corrélé au poids des feuilles ($r = 0,95^{**}$), ce qui indique que, de manière générale, les variétés ayant une production de feuilles plus importante ont également un poids des branches plus élevé. Cependant, ceci ne vaut pas pour le nombre de branches par plant car bien que la corrélation avec le poids des feuilles soit positive, elle est trop faible ($r = 0,49^{**}$).

Les coefficients de corrélation de Spearman donnent des valeurs croissantes en fonction de l'augmentation de l'âge et, après la quatrième récolte, ont des valeurs très élevées, ce qui indique que l'interaction variété/récolte tend à diminuer à mesure que les plants vieillissent et il est donc conseillé de maintenir les expériences pendant plus de deux ans avant d'effectuer les sélections.

Étant donné l'importance de la production de feuilles et de la corrélation élevée qu'elle présente avec d'autres caractéristiques d'intérêt séricicole, elle est utilisée pour la sélection des variétés les plus productives et les plus stables.

Les variétés les plus productives en moyenne sont IZ-19/13 et IZ-64 avec respectivement 844,6 g et 766,0 g de feuilles par plant. Ces productions sont supérieures de 121,5 % et 101,0 % à la variété témoin *calabresa* (Tableau II). Ces deux variétés donnent un coefficient de régression supérieur à 1, ce qui indique qu'elles répondent aux stimulus des saisons de manière plus forte que la moyenne des variétés et, par conséquent, qu'elles sont instables du point de vue du concept biologique de stabilité phénotypique (Lin et coll., 1986). Les écarts de régression pour ces variétés diffèrent de manière significative de zéro, ce qui confirme l'instabilité du point de vue agronomique (Eberhart et Russell, 1966).

Le coefficient de variation entre les saisons (Francis et Kannenberg, 1978) révèle cependant que les variétés les plus productrices se comptent différemment au niveau de la stabilité biologique car le coefficient de variation est de 74,19 % pour la variété IZ-64 et 49,79 % pour la variété IZ-19/13. Le coefficient de variation entre les saisons permet donc de détecter plus facilement, dans le matériel de haute production, les variétés qui présentent comparativement la plus petite fluctuation de productivité.

CONCLUSION

Les variétés les plus productives présentent les variations les plus significatives en fonction des saisons.

Le coefficient de variation entre les saisons est un moyen de mesure aussi efficace que le coefficient de régression et l'écart de régression pour l'étude de la stabilité phénotypique des variétés de mûrier. Néanmoins, le coefficient de variation facilite l'identification des variétés raisonnablement stables parmi les plus productives.

D'une manière générale, les variétés sélectionnées sont plus productives que le témoin. La variété IZ-19/13 se distingue avec un rendement élevé et un faible coefficient de variation.

REFERENCES

- ABDULLAEV I.K., GASANOV D.O., IMAMKULVER S.D. (1964), Hybrid mulberry in Azerbaijan and its importance in breeding. Trans. Azerbaijan Sci. Res., 5, 132-153. In Plant Breeding Abstract., 39(1), 169, Abst. 1273, Jan. 1969.
- BREESE E.L. (1969), The measurement and significance of genotype-environment interactions in grasses. Heredity, 24(1), 27-44.
- BUCIO ALANIS L. (1966), Environmental and genotype-environmental components of variability. I. Inbred line. Heredity, 21, 387-397.
- BUCIO ALANIS L., HILL J. (1966), Environmental and genotype environmental components of variability. II. Heterozygotes. Heredity, 21, 399-405.
- EBERHART S.A., RUSSEL W.A. (1966), Stability parameters for comparing varieties. Crop Science, 6, 36-40.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1986), Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. Boletim de Industria Animal, 43(2), 367-373.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987a), Competição de híbridos artificiais de amoreira. II. Boletim de Industria Animal, 44(2), 315-322.

- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987b), Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. III. Boletim de Industria Animal, 44(2), 323-328.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A. (1987c), Competição de variedades, híbridos naturais et híbridos artificiais de amoreira. IV. Boletim de Industria Animal, 44(2), 329-334.
- FONSECA T.C., VENCOVSKY R. (1981), Estimação de parâmetros visando à seleção de híbridos artificiais de amoreira (*Morus alba* L.). Boletim de Industria Animal, 38(1), 85-105.
- FRANCIS T.R., KANNENBERG L.W. (1978), Yield stability studies in short-season maize. 1. A descriptive method for grouping genotypes. Canadian Journal of Plant Science, 58, 1029-1034.
- JONES R.M., MATHER K. (1958), Interaction of genotype and environment in continuous variation. II. Analysis. Biometrics. 14, 489-498.
- LIN C.S., BINNS M.R., LETKOVITH L.P. (1986), Stability analysis : Where do we stand ? Crop Science, 26, 894-900.
- STEEL R.G.D., TORRIE J.H. (1980), Principles and procedures of statistics. 2nd Ed., New York, McGraw-Hill, 633 pp.
- VENCOVSKY R. (1978), Herança quantitativa. In PATERNIANI E. Melhoramento e produção de milho no Brasil. Fundação Cargill, Cap. 5, 122-201.

PHENOTYPICAL STABILITY IN THE MULBERRY

J.E. ALMEIDA, A.R. SOARES*, M.A.P. RAMALHO* & T.C. FONSECA

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

Leaf production and phenotypical stability were assessed for twenty mulberry (Morus alba L.) at the Estação Experimental de Sericicultura of Limeira (S.P.). The data concerning fresh weight, dry weight, branch number and weight were recorded for nine harvests (seasons). Regression coefficient (b_i), regression deviation (s^2_{di}) and variation coefficient between seasons (VC %) were assessed. Varieties IZ-19/13 and IZ-64 were more productive but with $b_i > 1$ and $s^2_{di} > 0$. The variation coefficient of variety IZ-19/13 was inferior to the average of all the varieties (49.79 %), contrary to variety IZ-64 whose VC was higher (74.19 %), indicating that the variation coefficient facilitates the identification of the most stable varieties among high-yield varieties.

Keywords : Phenotypical stability, mulberry, genetics.

INTRODUCTION

Increasing sericulture productivity can be achieved, among other things, by using mulberry (*Morus alba* L.) varieties having higher production. Many reports have been published on this subject (Abdullaev *et al.*, 1969 ; Fonseca *et al.*, 1986, 1987a, 1987b, 1987c). As the mulberry is a dioecious species propagated vegetatively, researchers apply the same method which consists in hybridizing the plants having favourable characteristics and then selecting the varieties. The aim of this hybridization is to combine the desired characteristics previously contained in various plants in one single plant. The hybrids thus obtained are reproduced vegetatively for composing new clones having all the genic types.

However, the influence of seasonal factors makes selection work difficult because, except for a few characteristics such as leaf size and shape and petiole length, which are little affected by seasonal factors, the other characteristics, of a quantitative nature, such as leaf and branch production, can show considerable variations from one season to the other (Fonseca and Vencovsky, 1981).

The interaction between genotype and environment determines the existence of specific genotypes for each season and makes it difficult to choose one given genotype with higher average yields (Vencovsky, 1978 ; Jones and Mather, 1958 ; Buccio Alanis, 1966 ; Buccio Alanis and Hill Jr., 1966 ; Breese, 1969).

In order to obtain a more efficient selection, it is necessary to know the nature and range of the genotype-season interaction and, as far as possible, to select the most stable genotypes, i.e. those which show less behavioural variation from one season to the other (Eberhart and Russel, 1966).

In the mulberry, in addition to a high leaf yield, one tries to obtain low fluctuations among the sections of one agricultural year and among different years. Stable materials are therefore required to obtain a constant leaf production per hectare of mulberries.

* Professors, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Brazil.

Several methods have been put forward to assess phenotypical variability (Eberhart and Russel, 1966 ; Francis and Kannenberg, 1978), these can adapt to the type of material studied and to the stability concept adopted (Lin *et al.*, 1986). To assess the leaf production stability in the mulberry clones during sections, one adopts the biological concept of stability. A comparison between the various seasons was established by studying the following statistical parameters : regression coefficient (b), regression deviation (s^2_{di}) and variation coefficient during the seasons.

The aim of the present work is to assess the phenotypical stability of leaf productivity during the successive harvests in some promising mulberry varieties.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out at the Estação Experimental de Sericicultura of Limeira (S.P., Brazil) during the 1983-1987 period following the random block method with five replications, twenty treatments, viz. 19 promising mulberry varieties (obtained from the selection programme of the Instituto de Zootecnia termed IZ) and variety *calabresa* (control). The plots were each made up of four plants having a 1.00 m x 1.50 m spacing. Three harvests were done in the three agricultural years of 1984-85 ; 1985-86 and 1986-87 (the 1983-84 production was not taken into account). Nine harvests therefore constituted the seasons.

The leaves were harvested individually on each plant to collect the data on fresh weight, dry weight, branch weight and number. The dry weight of the leaves was calculated on the basis of a 200 g sample.

The analysis of the data obtained followed the pattern of time sub-division of the plots, in which the varieties constitute the plots and the harvests the sub-plots (Steel and Torrie, 1980).

The mathematical model adopted is as follows :

$$Y_{ijk} = m + g_i + b_k + (gb)_{ik} + c_j + (cb)_{jk} + (gc)_{ij} + e_{ijk}$$

Where :

Y_{ijk} = variable observed for variety i during harvest j in block k,

m = general average of the experiment,

g_i = effect of variety i (set),

b_k = effect of block k (random),

(gb) = effect of variety/block interaction (error a),

c_j = effect of harvest j (random),

(cb) = effect of harvest/block interaction (error b),

gc = effect of variety/harvest interaction,

e_{ijk} = average experimental error (error c).

The phenotypical stability was assessed according to the procedure of Eberhart and Russel (1966). The coefficients of regression (b_i) and of regression line deviation (s^2_{di}) were determined using the following formulae :

$$b_i = \frac{\sum_{j=1}^J Y_{ij} (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})}{\sum_{j=1}^J (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})^2} ; \quad s^2_{di} = \frac{\sum_{j=1}^J (Y^2_{ij} - \bar{Y}^2_{i.}) - \frac{[\sum_{j=1}^J Y_{ij} (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})]^2}{\sum_{j=1}^J (\bar{Y}_{.j} - \bar{Y}_{..})^2}}{(J - 2)}$$

Where :

Y_{ij} = datum observed for variety i in harvest j,

$\bar{Y}_{i.}$ = average of variety i for all the harvests,

$\bar{Y}_j$ = average of all the varieties in harvest j,

$\bar{Y}_i$ = general average of all the varieties in all the harvests.

The significance of regression coefficients and regression deviation was determined according to t test (Steel and Torrie, 1980).

Also, the variation coefficients (VC %) between seasons (Francis and Kannenberg, 1978 ; Linn *et al.*, 1986) were determined as per the following formula :

$$(CV_i \%) = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^J (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2}{(J-1)}}}{\bar{Y}_i} \times 100$$

Spearman's correlation coefficients were also assessed for the twenty varieties during the nine harvests.

RESULTS AND DISCUSSION

The results showed that significant differences exist between the average yields of the varieties (Table I) for all the variables. This indicates that selection may be improved as far as plots are concerned even for high-value variation coefficients.

The average leaf yield obtained was low as compared to other investigations carried out on the same material (Fonseca *et al.*, 1986, 1987a, 1987b, 1987c). In addition, the variation coefficients gave acceptable values for both the plots and the sub-plots which can be applied to the work on the mulberry.

A significant production variation from one harvest to the other was observed and the variety/harvest interaction confirms that this variation shows differently depending on the material tested.

The values of the leaf fresh weight gave a high correlation coefficient with the leaf dry weight ($r = 0.98^{**}$), indicating that the fresh weight reflects dry matter production. It should therefore be chosen in preference to dry weight for measuring the yield. The branch weight was also highly correlated to the leaf weight ($r = 0.95^{**}$), indicating that generally varieties having a higher leaf production also have a higher branch weight. However, this is not valid for the number of branches per plant because, although the correlation with the leaf weight is positive, it is too low ($r = 0.49^{**}$).

Spearman's correlation coefficients gave increasing values with the increase in age and, after the fourth harvest, had very high values, indicating that the variety/harvest interaction tends to diminish as the plants get older. It is therefore advised to maintain the experiments for more than two years before making the selections.

In view of the importance of the leaf yield and of its high correlation with other sericulturally important characteristics, it is used for selecting the most productive and stable varieties.

The average most productive varieties are IZ-19/13 and IZ-64 with 844.6 g and 766.0 g of leaf per plant, respectively. These yields are superior by 121.5 % and 101.0 % to the control variety, *calabresa* (Table II). These two varieties gave a regression coefficient superior to 1, indicating that they responded more strongly to the season stimuli than the average of the varieties and consequently that they are unstable from the standpoint of the biological concept of phenotypical stability (Lin *et al.*, 1986). The regression deviations for these varieties differed significantly from 0, thus confirming the instability from the agronomical standpoint (Eberhart and Russell, 1966).

The coefficient of variation between seasons (Francis and Kannenberg, 1978), however, revealed that the most productive varieties are counted differently in terms of biological stability because the variation coefficient was 74.19 % for variety IZ-64 and 49.79 % for variety IZ-19/13. The variation coefficient between seasons therefore facilitates the detection, among the high-yield materials, of the varieties presenting the smallest productivity fluctuation.

CONCLUSION

The most productive varieties present the most significant variations according to seasons. The variation coefficient between seasons is a means of measurement as efficient as the regression coefficient and regression deviation for the study of the phenotypical stability of mulberry varieties. Nevertheless, the variation coefficient facilitates the identification of the reasonably stable varieties among the most productive.

Generally, the selected varieties are more productive than the control. Variety IZ-19/13 stands out with a high yield and a low variation coefficient.

ENVIRONMENTAL REGULATION OF VOLTINISM IN *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE), THE INDIAN TASAR SILK INSECT

B.K. NAYAK* & M.C. DASH**

* State Sericulture Research Station, Orissa, Baripada - 757001, India.

** School of Life Sciences, Sambalpur University, Burla - 768017, India.

The investigation under field condition indicated that voltinism in the Indian tasar silk insect, Anthraea mylitta D., is primarily governed by environmental factors at an altitudinal gradient. A. mylitta exhibited trivoltinism at low altitude (50-300 m ASL) with occurrence of higher temperature (23.45-28.96 °C), humidity (82.83-89.64 %), longer hours of sunshine (134.49-282.24 hours per month) with longer day length (10.78-13.12 hours). It exhibited bivoltinism at medium altitude (301-600 m ASL) with medium temperature (21.05-26.08 °C), higher humidity (74.69-86.15 %), medium hours of sunshine (100.46-240.41 hours per month) with medium day length (10.42-12.78 hours). It also exhibited univoltinism at higher altitude (601-1000 m ASL) with lower temperature (17.39-22.53 °C), higher humidity (80.42-88.47 %) and lower hours of sunshine (69.60-162.02 hours per month) with shorter day length (10.16-12.38 hours). In an altitudinal gradient both the temperature and the average daily hours of sunshine decreased whereas in a seasonal gradient, though temperature decreased, the average daily hours of sunshine increased. But the voltinism was governed by the climatic condition of the altitude, which opens up a new scope of voltinism manipulation for better yield.

Keywords : *Anthraea mylitta*, voltinism, tasar, environmental regulation, temperature, humidity, rainfall, wet days, sunshine, day length, Daba and Sukinda ecoraces.

INTRODUCTION

Voltinism is the number of broods in a year. In many multivoltine insects, voltinism and seasonal polymorphism are controlled by environmental factors such as temperature and photoperiod (Lees, 1955 ; Danilevskii, 1965). In the life cycle of the silkworm, *Bombyx mori* L., voltinism is one of the most important self-regulating character which is determined mainly during the later larval and pupal stages and, according to brood frequency, the silkworm may be uni, bi or trivoltine (Morohoshi, 1957). A lot of references exist on the characterization of voltinism in *Bombyx mori* and to show its relationship with environmental factors (Harade, 1921 ; Watanabe, 1924 ; Kogure, 1933 ; Umeya, 1939 ; Fukuda, 1953 ; Morohoshi, 1957). Many previous studies have been made on the occurrence of voltinism and the effect of temperature and photoperiod of different *Anthraea* species (Dawson, 1931 ; Tanaka, 1950a, 1950b, 1950c, 1951a, 1951b, 1956 ; William *et al.*, 1965 ; Mansingh and Smallman, 1967 ; Jolly *et al.*, 1971 ; Kumar and Sinha, 1974 ; Kato and Sakate, 1981 ; Bahl *et al.*, 1987). However, the research findings are not always uniform because voltinism is not only controlled by the genes and the endocrine system but also regulated by various environmental factors. While prosecuting ecological field studies on *A. mylitta* for the last five years, the authors observed the influence of certain environmental factors on voltinism and this paper reports these field observations in an altitudinal gradient and their relation to *A. mylitta*.

MATERIAL AND METHODS

Study site

The Mayurbhanj District of Orissa (India) is famous for tasar culture. This study site exhibits a wide variation in topography and climatic conditions. Mayurbhanj is a land-locked district of 10,418 sq. km between 85°40' to 87°11' longitude east and 21°16' to 22°34' latitude north and it is rich with tasar fauna. Out of the total 3 790 sq. km of tropical forest in the district, 2 750 sq. km constitute the centrally located Similipal hill forest which divides the district into three natural divisions, i.e. eastern division, south-western division and north-eastern division. The eastern division slopes gently from the foothills towards the sea and the other two divisions are mainly undulating plains rising and falling in gentle slopes. The terrain ranges from 50 to 1 000 m above sea level (ASL) having a large number of hills, valleys and streams, the thickness of the forest and tallness of the trees increases with the increase in the altitude of the place. At 50-300 m ASL plane-land thin forests without hills are found, at 301-600 m ASL medium forests with low-height scattered hills and at 601-1 000 m ASL very thick forests and a frequent number of high hills and mountains. As climatic variations are observed with an altitudinal gradient, ten study sites were selected at intervals of 100 m ASL elevations from 50 to 1 000 m ASL (Table I) with an exception at the lowest elevations. Below 50 m ASL there was no rearing field and above 1 000 m ASL was a hill peak not approachable.

At each study site one rearing field, one rearing hut and one grainage house were provided by State Sericultural Research Station, Orissa, Baripada. The rearing fields were demarcated in the natural forests having the adequate number of food plants (*Terminalia tomentosa*) for tasar silkworm rearing. Temporary rearing huts were constructed at each rearing field for keeping rearing appliances and taking rest and shelter. Temporary grainage houses were either constructed or procured on a hire basis for storing the live cocoons and observing their emergence. Those were also used for collection of disease-free layings (DFLs) for the subsequent generation whenever possible.

Experimental design

A. mylitta is a polyphagous insect and semi-domesticated tasar silkworm, feeding on Asan (*Terminalia tomentosa*), Arjun (*Terminalia arjuna*), and Sal (*Shorea robusta*). Most of the ecoraces are bivoltine and a few are trivoltine (Jolly *et al.*, 1974, 1979). Depending upon the voltinism of the race, the reproduction coincides with rain (July-August), autumn (September-October) or winter (November-December) seasons. In Orissa, *A. mylitta* has been reared on Asan and Arjun plants and exhibits bi and trivoltinism in two ecoraces, Daba and Sukinda respectively (Jolly *et al.*, 1968).

At the onset of the rearing season, i.e. during the rain season, 2 000 healthy and fresh layings (DFLs) for each of the bivoltine and trivoltine breeding stocks of Daba and Sukinda were procured from the State Government Department and were equally distributed to all the ten study sites situated at different altitudes. At each study site 200 DFLs of Daba and 200 DFLs of Sukinda were reared isolatedly in five replications of 40 DFLs each by employing the traditional tasar rearers. The rearing was conducted on Asan (*T. tomentosa*) plant as this plant was available in all the altitudes (Table I). In all the cases the rearing was outdoors and the general principles of tasar rearing, such as sanitation, watch and ward, larval transfer from one host plant to another, were followed. The cocoons harvested from Daba and Sukinda during the rain season were kept isolatedly in garlands after due sorting on replication wise in temporary grainage houses of the area concerned. DFLs were collected and reared as above during autumn and winter seasons wherever the next generation was possible through the emergence of the moth and production of viable eggs. The places at which the pupal diapause prolonged, the cocoons were garlanded as such until emergence occurred. The experiment was repeated five times during 1984 to 1988. The voltinism of the bivoltine and trivoltine breeding stocks for all the above years were observed and recorded (Table II).

Moreover, at each study site environmental parameters were observed daily on temperature, humidity, rainfall, duration of sunshine and day length. The observatories were installed at well-exposed level spots of 54 metres (N-S) by 36 metres (E-W) away from high hills, buildings and water channels (Venkiteswaran, 1956). But at higher altitudes the presence of tall trees, dense forests and high hills could not be avoided at all places due to the very topography of the place. The air temperature was measured with the help of a max. min. thermometer placed inside a Stevenson screen

at 1.3 meters above ground level. The humidity was measured with the help of a hygrometer exposed in a Stevenson screen. The rainfall was measured with the help of a rain gauge erected on $0.6 \times 0.6 \times 0.6$ m concrete foundation. The duration of sunshine was recorded with the help of a sunshine recorder erected on a solid masonry pillar at a height of 3 metres above the ground and the minimum radiation value for sunshine recorded was about 0.2 to 0.4 cal/cm²/min. The day length was calculated from the timing of sunset and sunrise which were related to the visibility of the upper beam of the sun on the horizon. From these five years of observation the altitudinal specific month and seasonwise values of the above parameters were calculated (Table III).

RESULTS

A. mylitta was trivoltine at an altitude of 50-300 m ASL, bivoltine at 301-600 m ASL and univoltine at 601-1 000 m ASL (Table II). In all the altitudes the onset of rearing was during the rain season. Further generation and rearing was not possible at an altitude of 600-1 000 m ASL. At 301-600 m ASL rearing was possible during the rain and autumn seasons whereas at 50-300 m ASL rearing was carried out during all the three seasons, i.e. rain, autumn and winter.

Table I. Study sites relating to the experiment on environmental regulation of voltinism at different altitudes in Mayurbhanj District, Orissa, India.

Tableau I. Régulation du voltinisme par l'environnement en fonction des sites expérimentaux à différentes altitudes dans le district de Mayurbhanj, Orissa, Inde.

Sl. no. N° de série	Study site Site expérimental	Altitude (m ASL) Altitude (m)	Longitude (East) Longitude (Est)	Latitude (North) Latitude (Nord)	Topography Topographie	Dominant foodplant* Plante nourricière dominante*
1	Durgapur	50-100	86°55'	21°45'	Plain forest Plaine forestière	1. Arjun (<i>T. arjuna</i>) 2. Asan (<i>T. tomentosa</i>) 3. Sal (<i>S. robusta</i>)
2	Kaptipada	101-200	86°35'	21°30'	-do-	-do-
3	Bangiriposi	201-300	86°33'	22°10'	-do-	-do-
4	Bisoi	301-400	86°27'	22°11'	Valley forest Vallée forestière	1. Asan (<i>T. tomentosa</i>) 2. Arjun (<i>T. arjuna</i>) 3. Sal (<i>S. robusta</i>)
5	Thakurmunda	401-500	86°10'	21°32'	-do-	-do-
6	Kendumundi	501-600	86°8'	21°40'	-do-	-do-
7	Bhanjabasa	601-700	86°25'	21°35'	Hill forest Colline forestière	1. Sal (<i>S. robusta</i>) 2. Asan (<i>T. tomentosa</i>) 3. Arjun (<i>T. arjuna</i>)
8	Chahalla	701-800	86°25'	21°58'	-do-	-do-
9	Nigirda	801-900	86°10'	21°52'	-do-	-do-
10	Nawana	901-1 000	86°28'	21°50'	-do-	-do-
11	Meghasan	1 001 and above 1 001 et plus	86°25'	21°40'	Hill peak Sommet de colline	Not approachable Inaccessible

*In order of decreasing intensity / Par ordre décroissant.

At 50-300 m ASL altitude the mean maximum temperature was 30.19-35.14 °C, mean minimum temperature was 16.72-22.78 °C, mean minimum temperature was 23.45-28.96 °C, humidity as 82.83-89.64 %, the total rainfall was 867.24 mm with 68.00 number of wet days, the duration of sunshine was 134.49-282.24 hours per month with 10.78-13.12 hours of day length and it coincided with trivoltinism. At 301-600 m ASL, the mean maximum temperature was 27.24-31.67 °C, mean minimum temperature was 14.87-20.50 °C, mean average temperature was 21.05-26.08 °C, humidity was 74.69-86.15 %, total rainfall was 1 016.46 mm with 78.78 numbers of wet days, duration of sunshine was 100.46-246.41 hours per month with 10.42-12.78 hours of day length and it coincided with bivoltinism. At 601-1 000 m ASL the mean maximum temperature was 22.81-27.84 °C, mean minimum temperature was 11.87-17.23 °C, mean average temperature was 17.39-22.53 °C, humidity was 80.42-88.47 %, total rainfall was 1 168 mm with 97.12 number of wet days, the sunshine was 69.60-162.06 hours per month with 10.16-12.38 hours of day length and it coincided with univoltinism. Further voltinism was not possible below 22.53 °C average temperature (with max. min. temp. of 27.84 and 22.53 °C respectively), 82.57 % relative humidity, 69.60 hours of sunshine per month, 10.78 hours of day length and above 1 168 mm of total rainfall with 97.12 rainy days.

DISCUSSION

Many previous studies on *B. mori*, *A. pernyi*, *P. cynthia* and *P. ricini* on the effect of environmental factors on voltinism indicate that high temperature and high humidity induce higher voltinism and low temperature and humidity induced univoltinism although inducing temperature and relative humidity requirement varies from species to species (Watanabe (1924), Umeya (1925), Kogure (1933), Muroga (1943) and Morohoshi (1957) for *B. mori*, Danilevskii (1965) for *P. cynthia*, Tyngyin (1984) for *P. ricini* and Dawson (1933) for *A. polyphemus*).

The previous studies on *B. mori* and *P. ricini* on the effect of photoperiod on voltinism indicate that long day lengths induce further voltinism and that the effect of photoperiod differs with temperature (Kogure (1933) and Morohoshi (1957) for *B. mori* and Tyngyin (1984) for *P. ricini*). In *A. pernyi* a long day length (>15 L) induces further voltinism and a short day length (<14 L) induces univoltinism and the effect of photoperiod on voltinism is virtually independent of temperature (Tanaka, 1944, 1950). In *A. mylitta* a long day photoperiod (18 L) also induced a higher voltinism (Jolly *et al.*, 1974; Pant, 1984). However, Jolly *et al.* (1974) were of the opinion that high temperature combined with short day photoperiod induced further voltinism in *A. pernyi* and *A. polyphemus*. Kato and Sakate (1981) also reported that summer diapause at pupal stage in *A. yamamai* showed higher voltinism with short photoperiod (8-12 L).

All the above works were based on laboratory conditions except Bahl (1987) who reported that *A. proylei* becomes univoltine at higher altitude (2 000-3 000 m ASL) in cooler environment and bivoltine at lower altitude (600-1 000 m ASL) without any consideration of the role of environmental parameters other than the altitude and, to some extent, temperature. But the present investigation was based on field conditions in which the role of most of the environmental parameters have been taken into consideration. The result clearly indicated that *A. mylitta* exhibited trivoltinism at low altitude (50-300 m ASL) with the occurrence of high temperature (mean maximum 30.19-35.14 °C, mean minimum 16.72-22.78 °C, mean average 23.45-28.96 °C), high humidity (82.83-89.64 %), longer hours of sunshine (134.49-282.24 hrs per month) with 10.78-13.12 hrs of day length. It exhibited bivoltinism in medium altitude (301-600 m ASL) with medium temperature (mean maximum 27.24-31.67 °C, mean minimum 14.87-20.50 °C, mean average 21.05-26.08 °C), high humidity (74.69-86.15 %), medium hours of sunshine (100.46-240.41 hrs per month) with 10.42-12.78 hrs of day length. It also exhibited univoltinism at higher altitude (601-1 000 m ASL) with low temperature (mean maximum 22.81-27.84 °C, mean minimum 11.87-17.23 °C, mean average 17.39-22.53 °C), high humidity (80.42-88.47 %) and lower hours of sunshine (69.60-162.06 hrs per month) with 10.16-12.38 hrs of day length.

Table II. Voltinism of Daba (BV) and Sukinda (TV) silkworm breeds of *A. mylitta* reared at different altitudesTableau II. Voltinisme des races Daba (BV) et Sukinda (TV) du ver à soie *A. mylitta* élevées à différentes altitudes.

Rearing altitude (m ASL) <i>Altitude d'élevage (m)</i>	Parent ecorace <i>Ecorace parentale</i>	Voltinism of parent stock <i>Voltinisme des souches parentales</i>	Voltinism during rearing periods				
			1984	1985	1986	1987	1988
			<i>Voltinisme pendant les périodes d'élevage</i>				
			1984	1985	1986	1987	1988
50-100	Daba	BV	TV	TV	TV	TV	TV
	Sukinda	TV	TV	TV	TV	TV	TV
101-200	Daba	BV	TV	TV	TV	TV	TV
	Sukinda	TV	TV	TV	TV	TV	TV
201-300	Daba	BV	TV	TV	TV	TV	TV
	Sukinda	TV	TV	TV	TV	TV	TV
301-400	Daba	BV	BV	BV	BV	BV	BV
	Sukinda	TV	BV	BV	BV	BV	BV
401-500	Daba	BV	BV	BV	BV	BV	BV
	Sukinda	TV	BV	BV	BV	BV	BV
501-600	Daba	BV	BV	BV	BV	BV	BV
	Sukinda	TV	BV	BV	BV	BV	BV
601-700	Daba	BV	UV	UV	UV	UV	UV
	Sukinda	TV	UV	UV	UV	UV	UV
701-800	Daba	BV	UV	UV	UV	UV	UV
	Sukinda	TV	UV	UV	UV	UV	UV
801-900	Daba	BV	UV	UV	UV	UV	UV
	Sukinda	TV	UV	UV	UV	UV	UV
901-1 000	Daba	BV	UV	UV	UV	UV	UV
	Sukinda	TV	UV	UV	UV	UV	UV

BV = Bivoltine / *Bivoltin*; TV = Trivoltine / *Trivoltin*; UV = Univoltine / *Monovoltin*.

During the rain season, the mean average temperature and average daily hours of sunshine at 50-300 m ASL were 28.96 °C and 3.34 hrs, at 301-600 m ASL they were 26.08 °C and 3.24 hrs and at 601-1 000 m ASL they were 22.53 °C and 2.25 hours respectively. During autumn season, the mean average temperature and average daily hours of sunshine at 50-300 m ASL was 27.52 °C and 7.12 hours, at 301-600 m ASL it was 24.86 °C and 5.74 hours and at 601-1 000 m ASL they were 21.22 °C and 2.25 hrs respectively. Similarly, during the winter season, the mean average temperature and average daily hours of sunshine at 50-300 m ASL were 23.45 °C and 9.25 hrs, at 301-600 m ASL they were 21.05 °C and 7.88 hrs and at 601-1 000 m they were 17.34 °C and 5.31 hrs respectively. It is also a known fact that the atmospheric pressure (760 mm Hg at sea level) goes on decreasing by 9.12 mm for every 100 metre rise in altitude. Hence, there was a distinct atmospheric pressure difference in the different altitudes, although we have not measured it.

Table III. Mean value ($\pm$ SD) of some environmental parameters of different altitudes in different rearing seasons of *A. mylitta*.Tableau III. Valeurs moyennes ($\pm$ écart type) de certains paramètres climatiques à différentes altitudes et différentes saisons d'élevage d'*A. mylitta*.

Parameters <i>Paramètres</i>	Altitude (m ASL) <i>Altitude (m)</i>	Rain (July-August) <i>Saison des pluies (juin-août)</i>	Autumn (Sept.-Oct.) <i>Automne (sept.-oct.)</i>	Winter (Nov.-Dec.) <i>Hiver (nov.-dec.)</i>
Maximum temperature <i>Température maximum</i> (°C)	50-300 301-600 601-1 000	35.14 (0.27) 31.67 (0.17) 27.84 (0.38)	34.03 (0.52) 30.54 (0.32) 26.15 (0.11)	30.19 (0.41) 27.24 (0.37) 22.81 (0.29)
Minimum temperature <i>Température minimum</i> (°C)	50-300 301-600 601-1 000	22.78 (0.73) 20.50 (0.37) 17.23 (0.39)	21.01 (0.46) 19.19 (0.45) 16.29 (0.47)	16.72 (0.33) 14.87 (0.34) 11.87 (0.48)
Average temperature <i>Température moyenne</i> (°C)	50-300 301-600 601-1 000	28.96 (0.47) 26.08 (0.22) 22.55 (0.37)	27.52 (0.25) 24.86 (0.25) 21.22 (0.27)	23.45 (0.37) 21.05 (0.35) 17.34 (0.25)
Highest temperature <i>Température maximale</i> (°C)	50-300 301-600 601-1 000	38.33 (0.59) 35.30 (0.76) 31.06 (0.30)	35.43 (0.29) 32.20 (0.47) 28.57 (0.19)	33.20 (1.30) 30.78 (0.57) 25.41 (0.71)
Lowest temperature <i>Température minimale</i> (°C)	50-300 301-600 601-1 000	21.53 (0.59) 19.33 (0.71) 16.26 (0.18)	19.88 (0.78) 18.23 (0.77) 15.91 (1.28)	15.21 (1.38) 13.83 (0.42) 9.99 (0.75)
Relative humidity <i>Humidité relative</i> (%)	50-300 301-600 601-1 000	89.64 (1.02) 86.15 (1.75) 88.47 (2.81)	89.26 (0.87) 82.57 (2.38) 87.27 (1.72)	82.83 (1.49) 74.69 (1.97) 80.42 (1.60)
Duration of sunshine (hrs/month) <i>Durée d'ensoleillement (hr/mois)</i> (0.2 to 0.4 cal/cm ² /min.)	50-300 301-600 601-1 000	134.49 (8.49) 100.46 (6.54) 69.60 (4.81)	217.31 (8.76) 175.22 (8.46) 125.51 (7.88)	282.24 (12.68) 240.41 (6.77) 162.06 (11.88)
Day length (hrs) (sunrise to set) <i>Longueur du jour (heures)</i> (lever au coucher du soleil)	50-00 301-600 601-1 000	13.12 (0.04) 12.78 (0.04) 12.38 (0.08)	11.88 (0.16) 11.54 (0.05) 11.08 (0.08)	10.78 (0.04) 10.42 (0.04) 10.16 (0.27)
Total rainfall <i>Pluviométrie totale</i> (mm)	50-300 301-600 601-1 000	505.86 (110.40) 556.72 (59.72) 608.74 (59.98)	324.92 (61.75) 412.40 (65.52) 495.78 (58.98)	36.46 (11.14) 47.34 (6.16) 64.38 (13.62)
Rainy days ($\geq$ 1 mm rain fall) <i>Nombre de jours de pluie</i> ($\geq$ 1 mm d'averse)	50-300 301-600 601-1 000	38.46 (2.56) 41.38 (1.26) 50.14 (1.96)	23.80 (3.14) 30.00 (2.32) 35.54 (2.38)	5.74 (1.04) 7.40 (1.08) 11.44 (1.12)

In an altitudinal gradient both temperature and average daily hours of sunshine decreased whereas in a seasonal gradient, though temperature decreased, the average daily hours of sunshine increased. But in all the cases voltinism decreased. During the rain season the temperature and average daily hours of sunshine were highest at the lowest altitude (50-300 m ASL) causing trivoltinism, medium range of temperature and sunshine at medium altitude (301-600 m ASL) causing bivoltinism and the lowest range of temperature and sunshine at the highest altitude (601-1 000 m ASL) causing univoltinism. The fact that increased hours of sunshine during autumn and winter at 601-1 000 m ASL and during winter at 301-600 m ASL were unable to induce further voltinism might be due to the prevalence of low temperature regime and it clearly indicated that voltinism is primarily temperature-dependent.

Our field study for the last five years was based on the characterization of voltinism in relation to environmental temperature, relative humidity, duration of sunshine, total rainfall, number of rainy days and day length on an altitudinal gradient, which received little attention by other workers. A 1 000 m difference in altitude is approximately comparable to a 6° difference in latitude in its effects on the body size of a field cricket in Japan (Masaki, 1967). A 6° difference in latitude is apparently large enough to result in some genetic differences for climatic adaptation between two populations in some insects. Such a difference is often related to the difference in the critical photoperiod for voltinism induction, its intensity, its interruption or for developmental rate (Lees, 1955 ; Masaki, 1961 ; Danilevskii, 1965). But there are no such genetic differences among Daba and Sukinda varieties of *A. mylitta* (Jolly *et al.*, 1974) reared at different altitudes. In the absence of genetic modification it cannot be said that the populations reared at high elevations have a lower temperature threshold or have smaller heat requirement for development than do those at low elevations. Therefore, the voltinism of *A. mylitta* is environmentally controlled. Thus this study opens up a new scope of voltinism manipulation of *A. mylitta* at field level in an altitudinal gradient for better yield. Studies on the manipulation of threshold values of the above environmental parameters in an artificial condition is further suggested.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are highly grateful to the Director of Textiles and Additional Director, Sericulture, for their constant encouragements and for laboratory facilities.

REFERENCES

- BAHL R.K., PANDEY R.K., RAO P.R.T., SENGUPTA K. (1987), Induction of pupal diapause in oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* J. Sericologia, 27(3), 567-570.
- DANILEVSKII A.S. (1965), Photoperiodism and seasonal development of insects. Oliver & Boyd, London, 1-283.
- DAWSON R.W. (1931), The problem of voltinism and dormancy in the polyphemous moth. J. Exp. Zool., 59, 87-131.
- FUKUDA S. (1953), Determination of voltinism in multivoltine silkworm. Proc. Jap. Acad. Tokyo, 29(7), 385-389.
- HARADA H. (1921), Relation between moisture during incubation and voltinism in the bivoltine silkworm. Rep. Ueda. Seri. Coll., 4, 125.
- JOLLY M.S., CHATURVEDI S.N., PRASAD S.A. (1968), A survey of tasar crops in India. Ind. J. Seric., 1, 50-58.
- JOLLY M.S., SINHA S.S., RAZDAN J.L. (1971), Influence of temperature and photoperiod on termination of pupal diapause in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. J. Insect Physiol., 17, 753-760.
- JOLLY M.S., SEN S.K., AHSAN M.M. (1974), Tasar culture. Central Silk Board, Bombay, 1-266.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979), Non-mulberry silk. FAO Agricultural Bulletin, 29, 1-178.
- KATO Y., SAKATE S. (1981), Studies on summer diapause in pupae of *Antheraea yamamai* (Lepidoptera : Saturniidae). III Influence of photoperiod on larval stage. Appl. Ent. Zool., 16(4), 499-500.

- KOGURE M. (1933), The influence of light and temperature on certain characters of the silkworm, *B. mori*. Dept. Agri. Kyushu Imp. Univ., 4(6), 1-93.
- KUMAR P.A., SINHA S.S. (1974), Effect of photoperiod and temperature on pupal diapause in *A. proylei*. Proc. 1st Int. Seminar on non-mulberry silks. 135-142.
- LEES A.D. (1955), The physiology of diapause in arthropods, Cambridge monogram. Cambridge Univ. Press London, Exp. Biol., 4, 1-151.
- MANSINGH A., SMALLMAN B.N. (1967), Effect of photoperiod on the incidence of physiology of diapause in two saturniids. J. Insect Physiol., 13, 1147-1162.
- MASAKI S. (1961), Geographic variation of diapause in insects. Hirosaki Daigaku Nogakubu, Gakujutsu, Hokoku, 7, 66-98.
- MASAKI S. (1967), Geographical variation and climatic adaptation in a field cricket (Orthoptera : Gryllidae). Evolution, 21, 725-741.
- MOROSHI S. (1957), Physiogenetical studies on moltinism and voltinism in *Bombyx mori*. A new hormonal antagonistic balance theory on the growth. Jap. Soc. for Promotion of Science, 1-202.
- PANTR. (1984), Some biochemical aspects of the eri silkworm *Philosamia ricini*. Sericologia, 24(1), 53-91.
- TANAKA Y. (1944), Effect of day length on hibernation of Chinese oak tasar silkworm. Agri. Horti. (Nogoyo Oyobi Engei), 19(9), 53.
- TANAKA Y. (1950a), Studies on hibernation with special reference to photoperiod and breeding of Chinese tasar silkworm, I. J. Seric. Sci. Jap., 19(4), 358.
- TANAKA Y. (1950b), Studies on hibernation with special reference to photoperiodicity and breeding of the Chinese tasar silkworm, II. J. Seric. Sci. Jap., 19, 429.
- TANAKA Y. (1950c), Studies on the hibernation with special reference to photoperiodicity and breeding of Chinese tasar silkworm, III. J. Seric. Sci. Jap., 19, 580.
- TANAKA Y. (1951a), Studies on hibernation with special reference to photoperiodicity and breeding of the Chinese tasar silkworm, IV. J. Seric. Sci. Jap., 20, 191-201.
- TANAKA Y. (1951b), Studies on the hibernation with special reference to photoperiodicity and breeding of the Chinese tasar silkworm, V. J. Seric. Sci. Jap., 20, 132.
- TANAKA Y. (1956), Photoperiodic effects of alternated dark and light phases of diapause of *Antheraea pernyi*. Annu. Rept. Natl. Inst. Genetics, 6, 35-36.
- TINGYIN L. (1984), Studies on hibernation of eri-silkworm, *Philosamia ricini* - Rules of appearance of hibernation in cultivated eri-silk work. Inst. Seric. Scientia Agricultura Sinica, 1, 87-95.
- UMEYA Y. (1939), A consideration on the wintering of the insects from a standpoint of the life cycle of the silkworm. Zool. Mag., 51(7), 58-162.
- VENKITESWARAN S.P. (1956), Instructions for setting up a crop weather observatory. Indian Meteorological Dept., Agrimet. Technical Circular, 20, 1-7.
- WATANABE K. (1924), Studies on the voltinism in the silkworm, *B. mori*. Bull. Seric. Imp. Exp. Sta., 3(8), 46.
- WILLIAMS C.M., ADKISSON P.L., WALCOTT C. (1965), Physiology of Insect Diapause. XV The transmission of photoperiod signals to the brain of oak silkworm, *Antheraea pernyi*. Biol. Bull., 128, 497-507.

REGULATION DU VOLTINISME PAR L'ENVIRONNEMENT CHEZ LE VER A SOIE TASAR INDIEN *ANTHERAEA* *MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

B.K. NAYAK* & M.C. DASH**

* State Sericultural Research Station, Orissa, Baridapa - 757001, Inde.

** School of Life Sciences, Sambalpur University, Burla - 768017, Inde.

Les recherches menées sur le terrain indiquent que le voltinisme du ver à soie tassar indien *Antheraea mylitta* D. est principalement régulé par son environnement et est fonction de l'altitude. *A. mylitta* est trivoltin à basse altitude (50-300 m) en présence d'une température élevée (23.45-28.96 °C), d'une forte humidité (82.83-89.64 %), de longues périodes d'ensoleillement (134.49-282.24 heures par mois) et de photopériodes longues (10.78-13.12 heures). Il est bivoltin à moyenne altitude (301-600 m) en présence d'une température moyenne (21.05-26.08 °C), d'une forte humidité (74.69-86.15 %), de périodes moyennes d'ensoleillement (100.46-240.41 heures par mois) et de photopériodes moyennes (10.42-12.78 heures). En outre, il est monovoltin à haute altitude (601-1 000 m) en présence d'une température basse (17.39-22.53 °C), d'une humidité importante (80.42-88.47 %), peu d'ensoleillement (69.60-162.02 heures par mois) et des photopériodes courtes (10.16-12.38 heures). Selon le gradient d'altitude, la température et la durée journalière moyenne d'ensoleillement diminuent, alors que sur une échelle saisonnière, la durée journalière moyenne d'ensoleillement augmente. Le voltinisme est régulé par les conditions climatiques de l'altitude, ce qui ouvre de nouvelles possibilités de manipulations du voltinisme susceptibles de permettre un meilleur rendement.

INTRODUCTION

Le voltinisme est le nombre de générations sur une année. Chez de nombreux insectes polyvoltins, le voltinisme et le polymorphisme saisonnier sont contrôlés par des facteurs climatiques comme la température et la photopériode (Lees, 1955 ; Danilevskii, 1965). Dans le cycle vital du ver à soie *Bombyx mori* L., le voltinisme est l'un des caractères d'autorégulation les plus importants et est déterminé surtout au cours du dernier stade larvaire et du stade pupal ; suivant la fréquence, le ver à soie peut être monovoltin, bivoltin ou trivoltin (Morohoshi, 1957). Il existe de nombreuses références sur la caractérisation du voltinisme chez *B. mori*, décrivant sa relation avec les facteurs climatiques (Harade, 1921 ; Watanabe, 1924 ; Kogure, 1933 ; Umeya, 1939 ; Fukuda, 1953 ; Morohoshi, 1957). De nombreux travaux ont été réalisés sur l'existence du voltinisme et sur l'effet de la température et de la photopériode chez différentes espèces d'*Antheraea* (Dawson, 1931 ; Tanaka, 1950a, 1950b, 1950c, 1951a, 1951b, 1956 ; Williams et coll., 1965 ; Mansingh et Smallman, 1967 ; Jolly et coll., 1971 ; Kumar et Sinha, 1974 ; Kato et Sakate, 1981 ; Bahl et coll., 1987). Cependant, les résultats de ces recherches ne sont pas toujours uniformes car le voltinisme n'est pas seulement gouverné par les gènes et le système endocrinien mais aussi par divers facteurs climatiques. En poursuivant des recherches en extérieur sur l'environnement d'*A. mylitta* au cours des cinq dernières années, les auteurs ont observé l'influence de certains facteurs climatiques sur le voltinisme. Cet article présente les observations relevées sur le terrain en fonction de l'altitude et leur influence sur *A. mylitta*.

MATERIELS ET METHODES

Site d'étude :

Le district de Mayurbhanj dans l'Etat d'Orissa (Inde) est célèbre pour sa culture tasar. Ce site d'études présente une grande variation dans sa topographie et dans ses conditions climatiques. Mayurbhanj est un district intérieur de 10 418 km² entre 85°40' et 87°11' de longitude Est et 21°16' et 22°34' de latitude nord et possède une faune tasar riche. Sur un total de 3 790 km² de forêts tropicales, 2 750 km² abritent la forêt de colline de Similipal qui est située dans le centre du district et le divise en trois régions naturelles, à savoir : la région Est, la région Sud-Est et la région Nord-Est. La région Est descend en pente douce du pied des collines jusqu'à la mer et les deux autres régions sont composées de plaines faiblement vallonnées. Le terrain s'élève de 50 à 1 000 m au-dessus du niveau de la mer et est constitué de collines, de vallées, de rivières et de fleuves. La densité et la hauteur des collines, le nombre de vallées et de cours d'eau, l'épaisseur de la forêt et la hauteur des arbres s'accroissent avec l'altitude. Entre 50 et 300 m d'altitude se trouve une plaine sans collines constituée des forêts clairessemées ; entre 301 et 600 m d'altitude, le terrain est composé de collines dispersées avec des forêts de densité moyenne et entre 601 et 1 000 m d'altitude on trouve un grand nombre de hautes collines et de montagnes recouvertes de forêts très épaisses. Les variations climatiques étant observées en fonction d'un gradient altitudinal, 10 sites d'études ont été sélectionnés à intervalles de 100 m d'altitude de 50 à 1 000 m (Tableau I) sauf pour les altitudes les plus basses. Au-dessous de 50 m d'altitude, il n'existe pas de zone d'élevage et au-dessus de 1 000 m d'altitude, on trouve un sommet de montagne inaccessible.

Pour chaque site d'étude, une zone d'élevage, une cabane d'élevage et une maison de grainage ont été fournies par la State Sericultural Research Station de l'Etat d'Orissa (Baripada). Les zones d'élevages sont limitées aux forêts naturelles disposant d'un nombre suffisant de plantes nourricières (*Terminalia tomentosa*) pour l'élevage du ver à soie tasar. Des cabanes temporaires d'élevage sont construites sur chaque zone d'élevage pour stocker les outils d'élevage et pour servir d'abri. Des maisons de grainage temporaires ont été construites ou louées pour stocker les cocons frais et observer leur émergence. Celles-ci sont également utilisées pour conserver les pontes saines et permettre d'élever la génération suivante chaque fois que cela est possible.

Plan expérimental :

Le ver à soie tasar semi-domestique *A. mylitta* est un insecte polyphage qui se nourrit sur Asan (*Terminalia tomentosa*), Arjun (*Terminalia arjuna*) et Sal (*Shorea robusta*). La plupart des écoraces sont bivoltines et quelques-unes sont trivoltines (Jolly et coll., 1974, 1979). Suivant le voltinisme de la race, la reproduction coïncide avec la saison des pluies (juillet-août), l'automne (septembre-octobre) ou l'hiver (novembre-décembre). Dans l'Orissa, *A. mylitta* est élevé sur les plantes Asan et Arjun ; il est bivoltin chez l'écorace Daba et trivoltin chez l'écorace Sukinda (Jolly et coll., 1968).

Au début de la saison d'élevage, c'est-à-dire pendant la saison des pluies, 2 000 pontes saines et fraîches pour chacune des souches bivoltines et trivoltines Daba et Sukinda ont été fournies par le State Government Department et réparties en parts égales sur les dix sites d'études situés à différentes altitudes. Sur chaque site d'étude, 200 pontes saines de Daba et 200 pontes saines de Sukinda ont été élevées séparément en cinq réplicats de 40 pontes suivant la méthode traditionnelle d'élevage tasar.

L'élevage est effectué sur Asan (*T. tomentosa*), car cette plante se trouve à toutes les altitudes (Tableau I). Dans tous les cas, l'élevage est fait en extérieur et les principes généraux de l'élevage tasar tels que le système sanitaire, la surveillance, le transfert des larves d'une plante à l'autre, ont été observés. Les cocons de Daba et Sukinda récoltés pendant la saison des pluies sont conservés séparément en guirlande après avoir été triés sur chaque réplicat dans les maisons de grainage temporaires de la zone concernée. Les pontes saines sont prélevées et élevées suivant les méthodes décrites ci-dessus en automne et en hiver chaque fois qu'on a pu obtenir la génération suivante par émergence des papillons et production d'oeufs viables. Lorsque la période pupale se prolonge, les cocons sont conservés en guirlande jusqu'à émergence. L'expérience a été répétée cinq fois entre 1984 et 1988. Le voltinisme des souches bivoltines et trivoltines observé pour ces années est présenté dans le tableau II.

En outre, pour chaque site d'étude, on a relevé quotidiennement les paramètres climatiques concernant la température, l'humidité, la pluviométrie, la durée d'ensoleillement et la photopériode. Les observatoires sont installés dans des sites bien exposés de 54 mètres (N-S) par 36 mètres (E-W) et éloignés des hautes collines, des habitations et des cours d'eau (Venkiteswaran, 1956). Cependant, à haute altitude, la présence de grands arbres, de forêts denses et de hautes collines n'a pu être évitée à certains endroits en raison de la topographie même du lieu. La température de l'air est mesurée à l'aide d'un thermomètre maximal-minimal placé dans un écran de Stevenson à 1,3 m au-dessus du niveau du sol. L'humidité est mesurée à l'aide d'un hygromètre placé dans un écran de Stevenson. La pluviométrie est mesurée à l'aide d'un pluviomètre monté sur une base en béton de $0,6 \times 0,6 \times 0,6$ m. La durée d'ensoleillement est mesurée à l'aide d'un enregistreur d'ensoleillement monté sur un pilier en pierre à une hauteur de 3 mètres au-dessus du sol et la valeur de radiation minimale pour l'enregistrement de l'ensoleillement est d'environ $0,2$ à $0,4$ cal/cm²/min. La longueur du jour est calculée sur la base des heures de lever et de coucher du soleil déterminés à partir de la visibilité du rayon supérieur du soleil sur l'horizon. Les valeurs des paramètres ci-dessus sont calculées pour ces cinq années d'observations en fonction de l'altitude, du mois et de la saison (Tableau III).

RESULTATS

A. mylitta est trivoltin entre 50 et 300 m d'altitude, bivoltin entre 301 et 600 m d'altitude et monovoltin entre 601 et 1 000 m d'altitude (Tableau II). A toutes les altitudes, l'élevage commence au cours de la saison des pluies. Il n'a pas été possible d'obtenir une deuxième génération ni un deuxième élevage entre 600 et 1 000 m d'altitude. Entre 301 et 600 m d'altitude, l'élevage n'est possible qu'au cours de la saison des pluies et en automne, tandis qu'entre 50 et 300 m d'altitude l'élevage peut être conduit pendant les trois saisons, c'est-à-dire saison des pluies, automne et hiver.

Entre 50 et 300 m d'altitude, la température maximale moyenne est de $30,19$ - $35,14$ °C, la température minimale moyenne est de $16,72$ - $22,78$ °C, la température moyenne globale est de $23,45$ - $28,96$ °C, l'humidité est de $82,83$ - $89,64$ %, la pluviométrie totale est de $867,24$ mm avec $68,00$ jours de pluies, la durée d'ensoleillement est de $134,49$ - $282,24$ heures par mois pour des photopériodes de $10,78$ à $13,12$ heures ; cette altitude correspond au trivoltinisme. Entre 301 et 600 m d'altitude, la température maximale moyenne est de $27,24$ - $31,67$ °C, la température minimale moyenne est de $14,87$ - $20,50$ °C, la température moyenne globale est de $21,05$ - $26,08$ °C, l'humidité est de $74,69$ - $86,15$ %, la pluviométrie totale est de $1 016$ mm pour $78,78$ jours de pluies, la durée d'ensoleillement de $100,46$ - $246,41$ heures par mois pour des photopériodes de $10,42$ à $12,78$ heures, cette altitude correspond au bivoltinisme.

Entre 601 et 1 000 m d'altitude, la température maximale moyenne est de $22,81$ - $27,84$ °C, la température minimale moyenne est de $11,87$ - $17,23$ °C, la température moyenne globale est de $17,39$ - $22,53$ °C, l'humidité est de $80,42$ - $88,47$ %, la pluviométrie totale est de $1 168$ mm pour $97,12$ jours de pluie, l'ensoleillement est de $69,60$ - $162,06$ heures par mois pour des photopériodes de $10,16$ - $12,38$ heures, cette altitude correspond au monovoltinisme. Un voltinisme supérieur n'est pas possible lorsque la température moyenne est inférieure à $22,53$ °C (températures maximale et minimale : $27,84$ °C et $22,53$ °C, respectivement), l'humidité relative inférieure à $82,57$ %, l'ensoleillement inférieur à $69,60$ heures par mois, la photopériode inférieure à $10,78$ et la pluviométrie totale supérieure à $1 168$ mm pour $97,12$ jours de pluie.

DISCUSSION

De nombreux travaux sur l'effet des facteurs climatiques sur le voltinisme réalisés chez *B. mori*, *A. pernyi*, *P. cynthia* et *P. ricini* indiquent qu'une température et une humidité élevées induisent un voltinisme élevé et qu'une température et une humidité faibles induisent le monovoltinisme, bien que les conditions de température et d'humidité relative varient d'une espèce à l'autre (Watanabe (1924), Umeya (1925), Kogure (1933), Muroga (1943) et Morohoshi (1957) pour *B. mori*, Danilevskii (1965) pour *P. cynthia*, Tingyin (1984) pour *P. ricini* et Dawson (1931) pour *A. polyphemus*).

Les études réalisées chez *B. mori* et *P. ricini* sur l'effet de la photopériode sur le voltinisme indiquent que des photopériodes longues induisent un voltinisme supérieur et que l'effet de la photopériode diffère selon la température (Kogure (1933) et Morohoshi (1957) pour *B. mori* et Tingyin (1984) pour *P. ricini*). Chez *A. pernyi*, une photopériode longue (> 15 L) induit un voltinisme supérieur et une photopériode courte (< 14 L) induit le monovoltinisme ; l'effet de la photopériode sur le voltinisme étant pratiquement indépendant de la température (Tanaka, 1944, 1950). Chez *A. mylitta*, une photopériode longue (18 L) induit également un voltinisme supérieur (Jolly et coll., 1974 ; Pant, 1984). Cependant, Jolly et coll. (1974) pensent qu'une température élevée combinée avec une photopériode courte induit un voltinisme supérieur chez *A. pernyi* et *A. polyphemus*. Kato et Sakate (1981) ont également observé que la diapause d'été au stade pupal chez *A. yamamai* donnait un voltinisme supérieur sous l'effet d'une photopériode courte (8-12 L).

Tous les travaux cités ci-dessus ont été réalisés en laboratoire, sauf ceux de Bahl (1987) qui a observé qu'*A. proylei* devient monovoltin à haute altitude (2 000 à 3 000 m d'altitude) dans un environnement froid et bivoltin à moyenne altitude (600 à 1 000 m d'altitude) sans tenir compte du rôle de paramètres climatiques autres que l'altitude et, dans une certaine mesure, la température. Mais la présente étude a été conduite en extérieur et le rôle de la plupart des paramètres climatiques a été pris en considération. Les résultats indiquent clairement qu'*A. mylitta* est trivoltin à basse altitude (50-300 m d'altitude) en présence d'une température élevée (maximale moyenne : 30,19-35,14 °C, minimale moyenne : 16,72-22,78 °C, moyenne globale : 23,45-28,96 °C), d'une humidité importante (82,83-89,64 %), d'un ensoleillement long (134,49-282,24 heures par mois) avec une photopériode de 10,78-13,12 heures. Il est bivoltin à moyenne altitude (301-600 m d'altitude) en présence d'une température moyenne (maximale moyenne : 27,24-31,67 °C, minimale moyenne : 14,87-20,50 °C, moyenne globale : 21,05-26,08 °C), d'une humidité importante (74,69-86,15 %), d'un ensoleillement moyen (100,46-240,41 heures par mois) et d'une photopériode de 10,42-12,78 heures. Il est également monovoltin à haute altitude (601-1 000 m) en présence d'une température basse (maximale moyenne 22,81-27,84 °C, minimale moyenne : 11,87-17,23 °C, moyenne globale : 17,39-22,53 °C), d'une humidité importante (80,42-88,47 %), d'un ensoleillement court (69,60-162,06 heures par mois) et d'une photopériode de 10,16-12,38 heures.

Pendant la saison des pluies, entre 50 et 300 m d'altitude, la température moyenne globale et l'ensoleillement journalier moyen s'élèvent à 28,96 °C et 3,34 heures ; entre 301 et 600 m d'altitude, ils s'élèvent à 26,08 °C et 3,24 et, entre 601 et 1 000 m d'altitude, ils s'élèvent à 22,53 °C et 2,25 heures, respectivement. En automne, entre 50 et 300 m d'altitude, la température moyenne globale et l'ensoleillement journalier moyen s'élèvent à 27,52 °C et 7,12 heures ; entre 301 et 600 m d'altitude, ils s'élèvent à 24,86 °C et 5,74 heures et, entre 601 et 1 000 m d'altitude, ils s'élèvent à 21,22 °C et 2,25 heures respectivement. De même, en hiver, entre 50 et 300 m d'altitude, la température moyenne globale et l'ensoleillement journalier moyen s'élèvent à 23,45 °C et 9,25 heures ; entre 301 et 600 m d'altitude, ils s'élèvent à 21,05 °C et 7,88 heures et, entre 601 et 1 000 m d'altitude, ils s'élèvent à 17,34 °C et 5,31 heures respectivement. On sait également que la pression atmosphérique (760 mm Hg au niveau de la mer) diminue de 9,12 mm pour 100 m d'élévation. De ce fait, il y a des différences de pression atmosphérique distinctes entre les altitudes, bien que nous ne les ayons pas mesurées.

Selon un gradient altitudinal ascendant, la température et l'ensoleillement journalier moyen diminuent alors que, selon un gradient saisonnier ascendant, bien que la température diminue, l'ensoleillement moyen augmente mais, dans tous les cas, le voltinisme diminue. Pendant la saison des pluies, la température et l'ensoleillement journalier moyen sont plus élevés à basse altitude (50 à 300 m) et induisent le trivoltinisme ; à moyenne altitude (301 à 600 m), la température et l'ensoleillement moyens induisent le bivoltinisme et les températures et l'ensoleillement les plus faibles à haute altitude (601-1 000 m) induisent le monovoltinisme. Le fait que l'augmentation de la durée d'ensoleillement en automne et en hiver entre 601 et 1 000 m d'altitude n'ait pas permis d'augmenter le voltinisme pourrait être dû à la dominance d'un régime de faibles températures, ce qui indique clairement que le voltinisme est principalement lié à la température.

Notre travail sur le terrain sur les cinq dernières années est basé sur la caractérisation du voltinisme en fonction de la température du milieu, de l'humidité relative, de la durée d'ensoleillement, de la pluviométrie totale, du nombre de jours de pluie et de la durée du jour pour

un gradient altitudinaire, ce qui a fait l'objet de peu d'études jusqu'à présent. Un écart d'altitude de 1 000 m est approximativement comparable à un écart de latitude de 6° en ce qui concerne l'effet sur la taille de corps d'un cricket des champs au Japon (Masaki, 1967). Il semble qu'un écart de latitude de 6° est suffisant pour provoquer des différences génétiques entre deux populations d'insectes, leur permettant de s'adapter aux conditions climatiques. Un tel écart est souvent apparenté à la différence de photopériode nécessaire à l'induction du voltinisme, à son intensité, son interruption ou au taux de développement (Lees, 1955 ; Masaki, 1961 ; Danilevskii, 1965). Mais il n'existe pas de différence génétique de cette nature chez les variétés Daba et Sukinda d'*A. mylitta* (Jolly et coll., 1974) élevées à différentes altitudes. En l'absence de modifications génétiques, on ne peut affirmer que les populations élevées en altitude ont un seuil de température plus bas ou ont moins de besoins en chaleur pour leur développement que celles qui sont élevées à basse altitude. De ce fait, le voltinisme d'*A. mylitta* est régulé par son environnement. Cette étude ouvre donc de nouvelles perspectives pour la manipulation du voltinisme d'*A. mylitta* en milieu naturel et dans un gradient altitudinaire et peut permettre un meilleur rendement. Il est suggéré de mener des études sur la manipulation des valeurs de seuil des paramètres climatiques ci-dessus dans des conditions artificielles.

ULTRASTRUCTURE OF THE HEAD, SPINNERET, SILK GLAND AND EGG OF ERI SILKWORMS, *PHILOSAMIA RICINI*

P. M. NAMBIAR, N.A. PRAKASH & K.P. GOPINATHAN*

Department of Microbiology and Cell Biology and Centre for Genetic Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore - 560 012, India.

Ultrastructural studies by scanning electron microscopy on the head, spinneret, silk gland and egg of Eri (Philosamia ricini) silkworms have been made. A salient feature is the presence of a pair of large processes below the mandible which are rudimentary or absent in Bombyx mori. The fibre spinning apparatus, spinneret, is circular in shape and the opening is situated at the centre. On the dorsal side of the spinneret there is a triangular sclerotized structure, the apex of which merges with the opening of the spinneret. The base of the triangular structure merges with the proximal end of the prementum. At the apex of the spinneret there is a pair of palpi which may aid in intermittent cutting of the fibres by the spinning larvae resulting in open-mouthed cocoons. Taste bud-like structures are distributed on the proximal part of the mentum. The uneven silk fibres are secreted as two closely associated fibres. The anterior and middle silk glands of Eri show several depressions. Regular prominent surface foldings are seen on the posterior silk gland. The ultrastructure of the eggs of Eri silkworms is also presented.

Keywords : *Philosamia ricini*, scanning electron microscopy, head and spinneret, *Bombyx mori*, silk glands, silk fibre, ultrastructure.

INTRODUCTION

The main species of silkworms used for silk production in India are the mulberry silkworms (*Bombyx mori*), Eri (*Philosamia ricini*), Tasar (*Antheraea mylitta* and *Antheraea pernyi*) and Muga (*Antheraea assama*). The structure of the head of *B. mori* has been described by Krishnaswamy *et al.* (1983). The bave is spun by a joint process of drawing and ejection of silk through the spinneret and the speed ranges from 0.4 to 1.5 cm/sec. The mechanical stress accompanying the extrusion of aqueous silk causes the fibroin molecules to coagulate. However, it is evident that an α to β transition of silk fibroin occurs under shearing stresses, α representing an unordered conformation (Izuka, 1983). Sericin, which wraps up silk fibroin, may help the latter to pass easily through the nozzle after it has hardened. The morphology of the spinneret was found to be changed in the non-spinning diseased *B. mori* silkworms (Joy *et al.*, 1986).

The Eri silkworm (*Philosamia ricini*) is a domesticated lepidopteran which can be reared indoors. It is a multivoltine insect and can complete 4 to 6 cycles in a year. The larvae feed mainly on castor oil plant leaves (*Ricinus communis*) from which they acquired their name. The growing larvae undergo moult four times and have five instars. After 5 to 7 days in the fifth instar, the larvae mature, stop feeding, evacuate all solid and liquid content of the digestive tract and start to spin the cocoons. The

* To whom correspondence should be addressed.

cocoons spun by Eri silkworms are open-mouthed and the silk filament is neither continuous nor uniform in thickness. The cocoons are white and elongated and measure about 4 to 5 cm in length. The ultrastructure of the fibre spinning apparatus of Eri silkworm is not reported in the literature. The present paper describes the ultrastructure of the spinneret of Eri silkworms and its comparison to that of *B. mori*. An attempt has also been made to understand the ultrastructure of the silk glands and eggs.

MATERIALS AND METHODS

The eggs of Eri (*P. ricini*) silkworms were obtained from the Regional Tasar Research Centre, B.R. Hills, Mysore, India. The eggs were incubated in a BOD incubator at 28 °C. The hatched out larvae were fed on entire castor oil plant leaves, till the end of the fifth instar. When the larvae started spinning, the head was carefully cut along with the silk fibre and fixed in 4 % glutaraldehyde in phosphate buffer, pH 7.0 for 4 hr. The sample was slowly removed and washed extensively with phosphate buffer, pH 7.0, dehydrated and mounted on the grid using graphite resin or silver paint. The specimen was coated with gold for 3 minutes.

The silk gland of fifth instar 3rd day Eri silkworm was dissected in sterile sodium chloride-sodium citrate buffer (SSC) and processed for electron microscopy in the same way as mentioned above. The specimens of *B. mori* NB4D2 were also prepared in the same way. The ultrastructural studies were carried out with a Cambridge Stereoscan S-150 or with JEOL JSM-840 A, scanning electron microscope. The operating voltage in both cases was 20 KV.

RESULTS AND DISCUSSION

Ultrastructure of head, spinneret and fibre

Scanning electron micrographs of the head and spinneret of Eri silkworm are shown in Fig. 1. The head is densely covered with bristles (t) (Fig. 1A). There are six pairs of larval eyes (d) which are located behind and slightly above the base of the antennae (c) on the lateral side. The antenna is formed of five segments and is more protruded compared to that of *B. mori* (Fig. 1A). It measures about 1.2 mm in length, which is four times more than that of *B. mori*. In between the mandible and maxilla there is a pair of large processes (e) measuring 600 µm in length which are rudimentary or absent in the case of *B. mori* (Fig. 1B and 2A). These lateral processes may be an adaptation to eat castor leaves which are thick, lobed and more folded when compared to mulberry leaves. The maxilla (f) at the ventral side of the mouth consists of stipes, cardo, maxillary lobes and maxillary palpi (marked g, h, i, j and k in Fig. 1B and C). There are two maxillary lobes in Eri unlike the one in *B. mori* and the ventral lobe (il) consists of a single palpus. The stipes and cardo of the maxilla of *B. mori* are smaller and not well demarked. Maxillary lobe and palpi are believed to discriminate the taste of food. The labium (k) carries a lightly chitinized mentum (l) which has several bud-shaped (n) structures (10 µm) on the dorsal side near the mouth (Fig. 1B and Fig. 1C). The exact function of these buds is not known but they may serve as taste buds.

The spinneret (o) is circular in shape with a diameter of 173 µm unlike *B. mori* where it is tubular (Fig. 2, o). The opening (u) is situated at the centre of the spinneret with a diameter of 31 µm. The dorsal side of the spinneret shows a triangular sclerotized structure (p). The base of the triangular sclerotized structure corresponds to the apex of the prementum. The opening of the spinneret (u) merges with the apex of the sclerotized structure. The sclerotic structure and the sclerotic bars of the maxillary stipes control the free movement of the spinneret. These characteristics of the spinneret minimise its movement and prevent Eri larvae from producing spacious cocoons like that of *B. mori*. The median sclerotized bar (v) of *B. mori* is broader at the apex of the spinneret and narrow at the base, from where it originates from the prementum (Fig. 2A and B). In Eri the sclerotized structure ends up in a pair of palpi (r) of 10 µm in length, at the apex of the spinneret (Fig. 1D). These palpi are absent in *B. mori* and their function is not clearly known. They may help the worms in intermittent cutting of the silk bave resulting in the production of open-mouthed cocoons characteristic of Eri. The secreting fibre occupies only a small region of the opening (Fig. 1D). These fibres were found to contain 20 % sericins.

Fig. 1 : Head and spinneret of Eri worms.

Scanning electron microscopy of the dorsal side of the head and spinneret of Eri (*Philosamia ricini*) silkworms. Fig. 1A, B, C and D show spinneret at magnifications 25 $\times$, 50 $\times$, 95 $\times$ and 190 $\times$ respectively. For experimental details, see text.

Fig. 1 : Tête et filière du ver à soie Eri.

Observation au microscope électronique à balayage de la partie dorsale de la tête et de la filière du ver à soie Eri (*Philosamia ricini*). Les Fig. 1A, B, C et D montrent la filière grossie respectivement 25, 50, 95 et 190 fois. Pour la description, voir texte.

- a : labrum / *labre*,
- b : mandible / *mandibule*,
- c : antennae / *antennes*,
- d : larval eyes / *yeux larvaires*,
- e : lateral process / *excroissance latérale*,
- f : maxilla / *maxille (mâchoire)*,
- g : stipes / *stipes*,
- h : cardo / *cardo*,
- i : maxillary lobe / *lobe maxillaire*,
- il : ventral maxillary lobe / *lobe maxillaire ventral*,
- j : maxillary palpi / *palpes maxillaires*,
- k : labium / *labium*,
- l : mentum / *mentum*,
- m : prementum / *prementum*,
- n : bud-shaped structures / *structures en bouton*,
- o : spinneret / *filière*,
- p : triangular sclerotized structure / *structure triangulaire sclérotisée*,
- q : labial palpi / *palpes labiaux*,
- r : apical palpi / *palpes apicaux*,
- s : silk fibre / *fibre de soie*,
- t : bristles / *soies*,
- u : opening of the spinneret / *ouverture de la filière*.

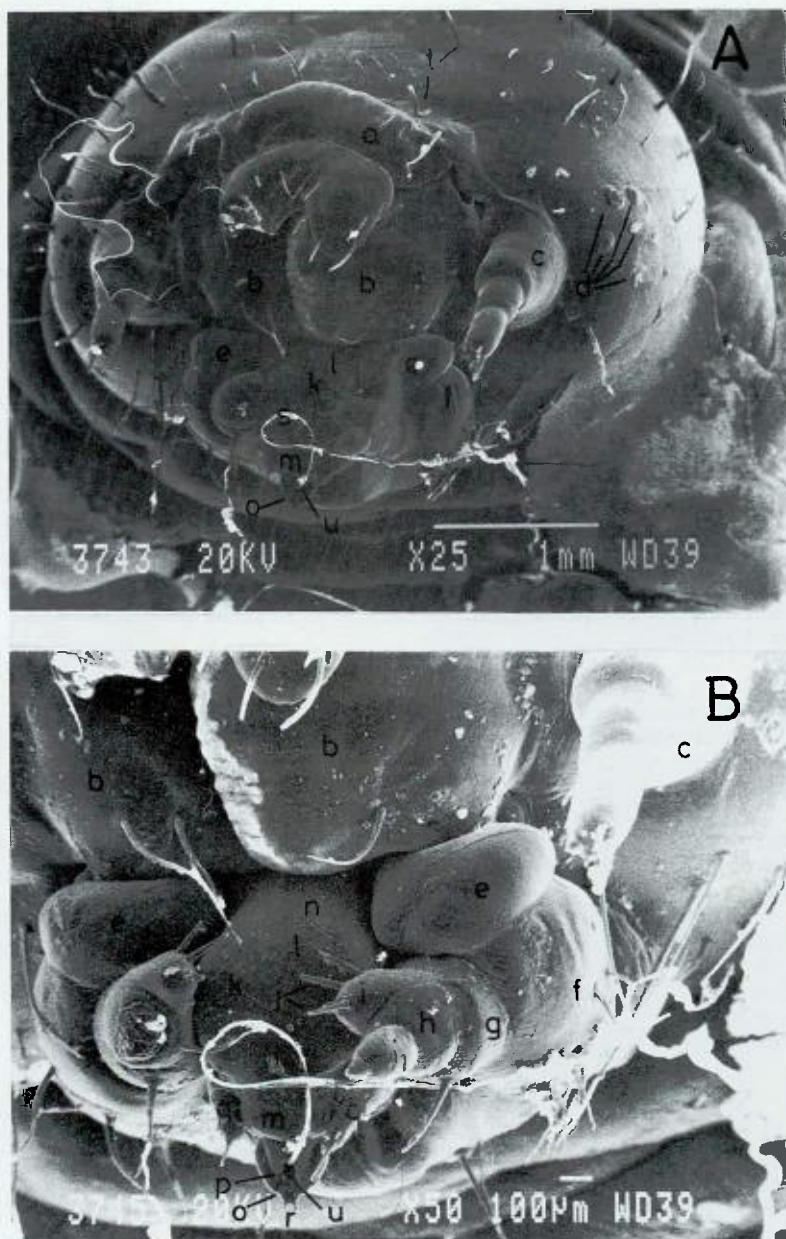


Fig. 1 (A &B).

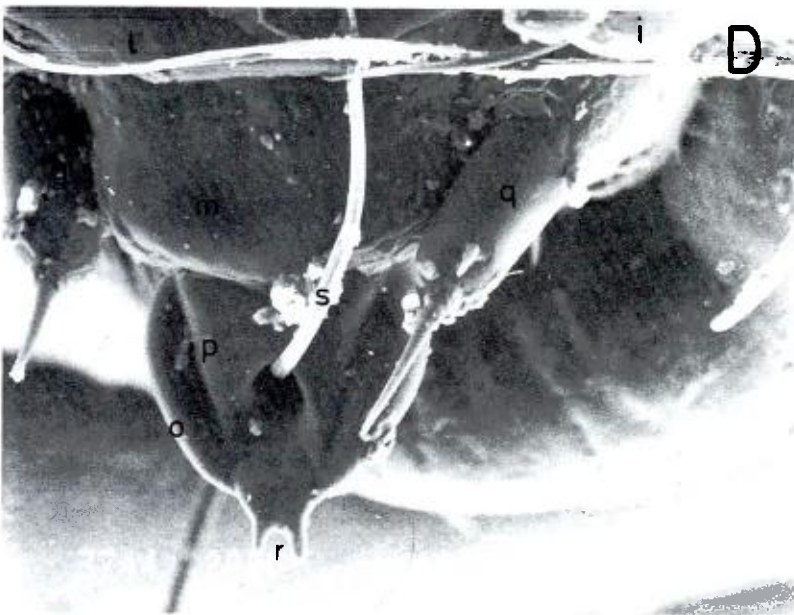
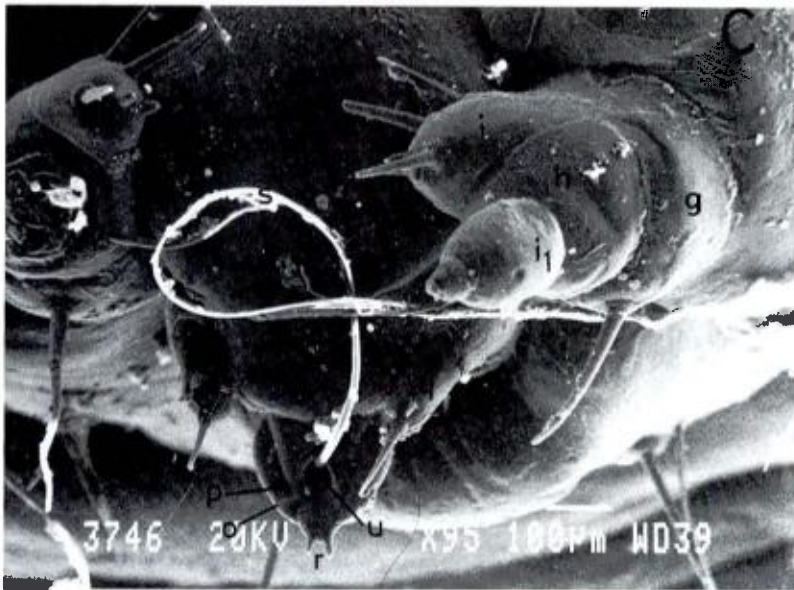


Fig. 1 (C & D).

Fig. 2 : Scanning electron microscopy of the head and spinneret of *Bombyx mori*.

The magnifications of 2A and B are 100× and 500× respectively.

Fig. 2 : Observation au microscope électronique de la tête et de la filière de *Bombyx mori*.

Le grossissement des figures 2A et 2B est de 100 et 500 respectivement.

i : maxillary lobe / lobe maxillaire,
j : maxillary palpi / palpes maxillaires,
g : stipes / stipes,
h : cardo / cardo,
l : mentum / mentum,
m : prementum / prementum,

q : labial palpi / palpes labiaux,
o : spinneret / filière,
s : silk fibre / fibre de soie,
v : median sclerotized bar / barre médiane sclérotisée,
u : opening of the spinneret / ouverture de la filière.

Fig. 3 : Secretion of silk fibre.

Scanning electron microscopy of the opening of the spinneret of *B. mori* (A) (900×) and *Eri* (B) (300×) silkworms.

The two closely associated fibres of the bave are not clear in the case of *Eri* silkworm.

Fig. 3 : Sécrétion de la fibre de soie.

Observation au microscope électronique à balayage de l'ouverture de la filière des vers à soie *B. mori* (A) (× 900) et *Eri* (B) (× 300).

Les deux fibres étroitement liées de la bave n'apparaissent pas clairement chez le ver à soie *Eri*.

s : silk fibre / fibre de soie,
o : spinneret / filière,

u : opening of the spinneret / ouverture de la filière,
p : triangular sclerotized structure / structure sclérotisée triangulaire.

Fig. 4 : Ultrastructure of silk glands.

Scanning electron microscopy of the anterior (A, D), middle (B, E) and posterior (C, F) silk glands of *Eri* silkworms at low (200×) (A, B, C) and high (1,000×) (D, E, F) magnification.

Fig. 4 : Ultrastructure des glandes séricigènes.

Observation au microscope électronique à balayage de la glande séricigène antérieure (A, D), du réservoir (B, E) et du sécréteur (C, F) du ver à soie *Eri* à grossissement faible (× 200) (A, B, C) et à grossissement fort (× 1 000) (D, E, F).

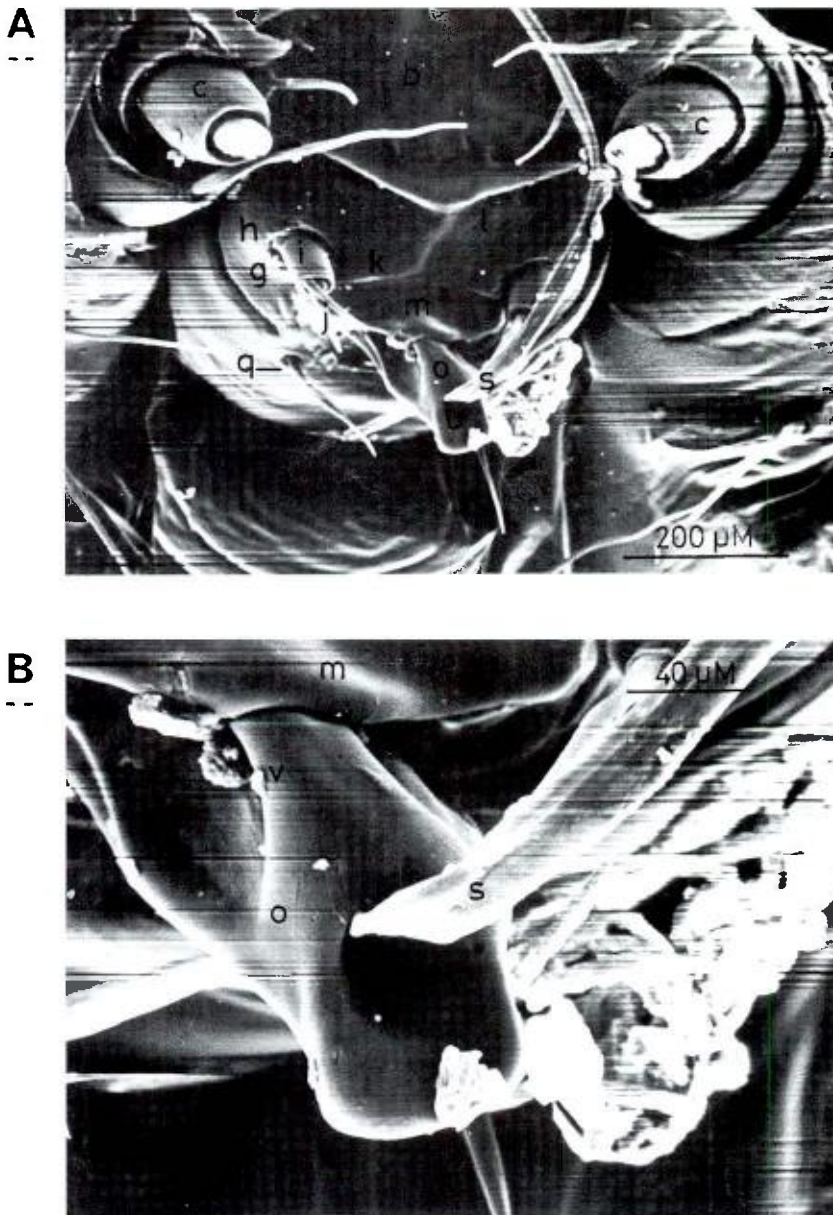


Fig. 2.

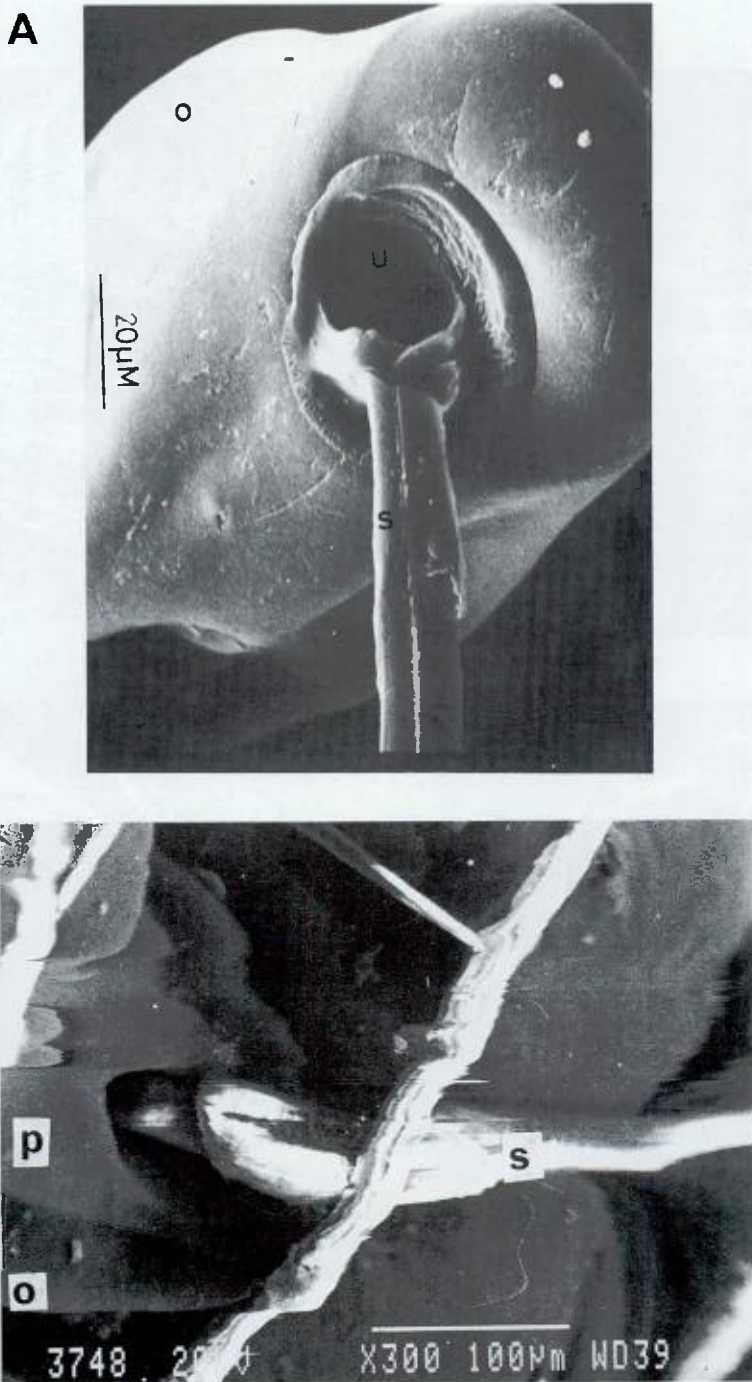
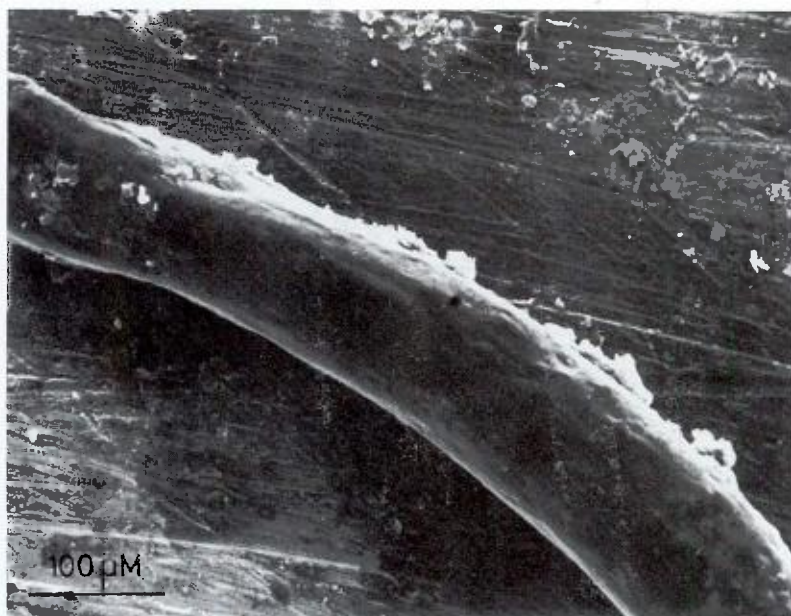


Fig. 3.

A



B

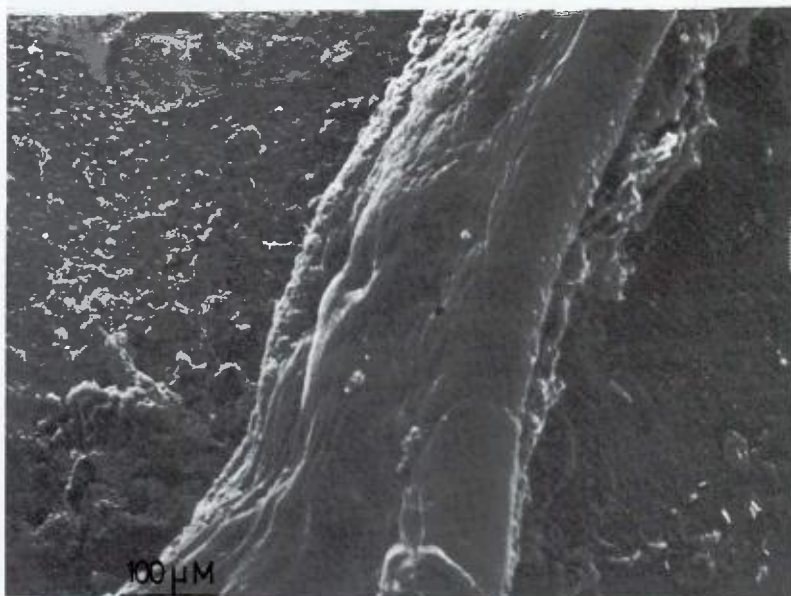


Fig. 4 (A &B).

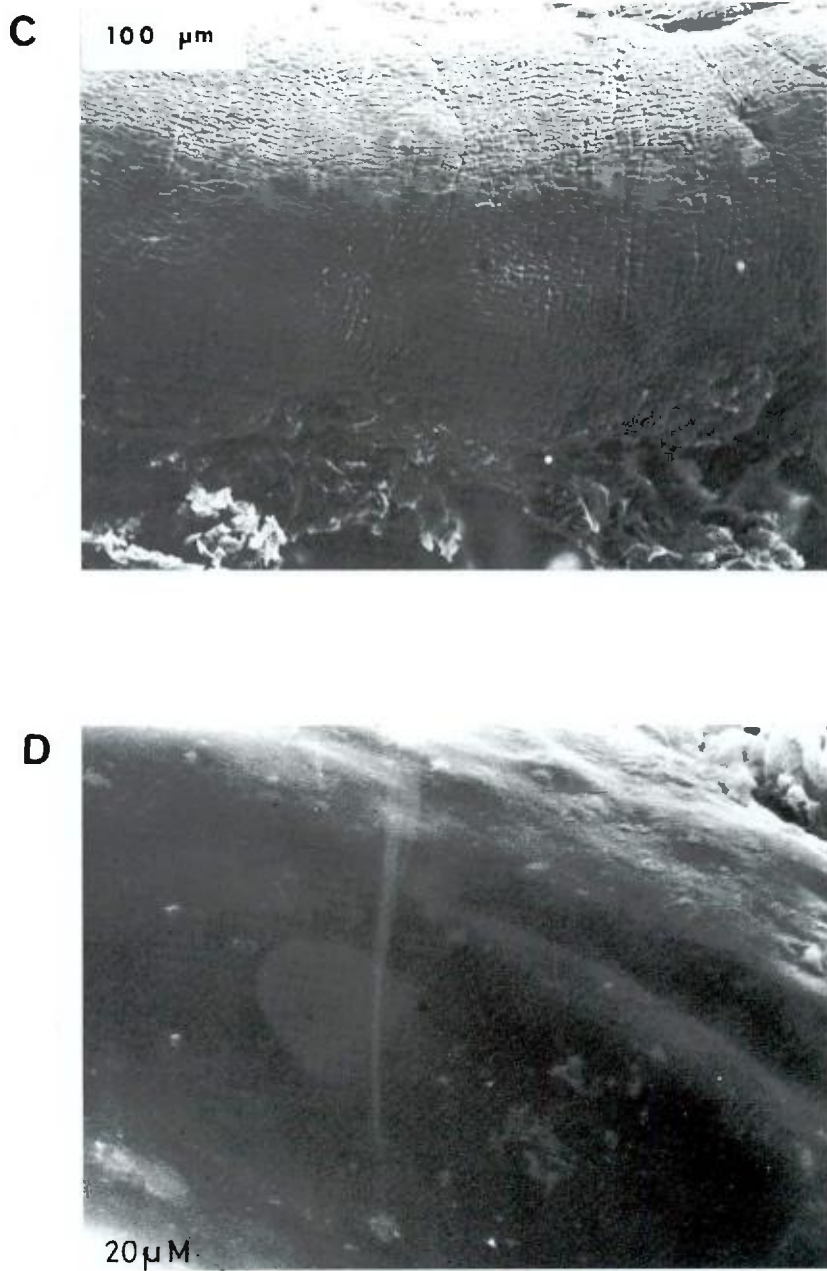


Fig. 4 (C & D).

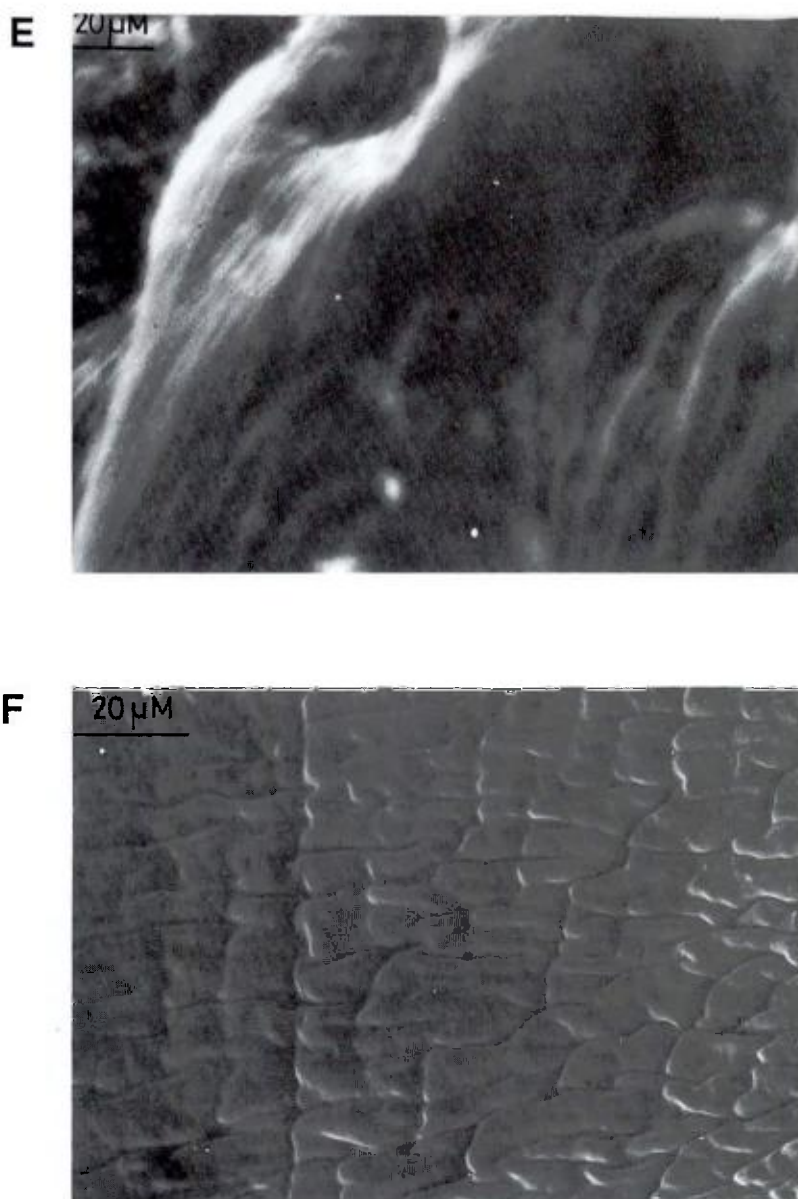


Fig. 4 (E & F).

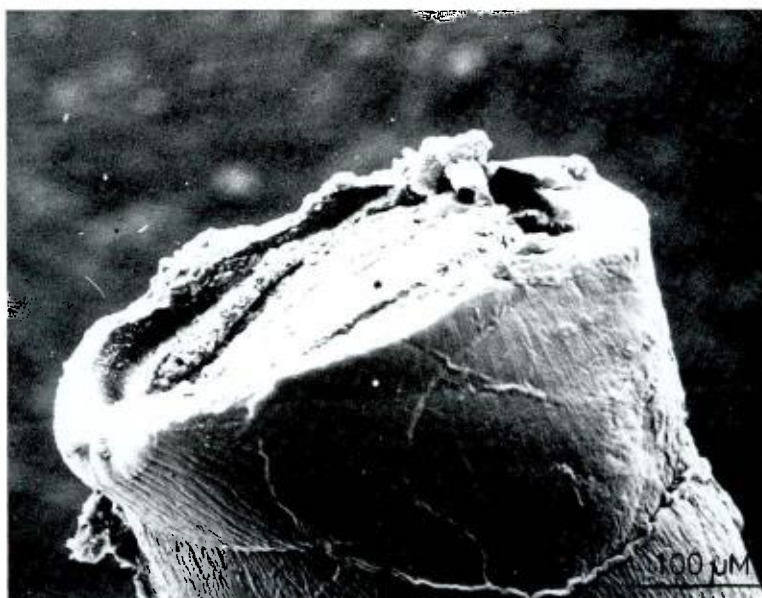


Fig. 5 : Cut face of posterior silk gland of Eri.

Posterior silk glands of *P. ricini* on the 6th day of the 5th instar were cut and fixed in gluteraldehyde. The picture (magnification 150 ×) shows accumulation of fibroin within the glands.

Fig. 5 : Section du sécréteur du ver à soie Eri.

Des sécréteurs de *P. ricini* ont été sectionnés au 6ème jour du 5ème âge larvaire et fixés dans de la glutaraldéhyde. Le cliché (grossissement : × 150) montre la fibroïne accumulée à l'intérieure des glandes.

The sensory labial palpi (q) are situated below the maxillae at the base of the prementum on the lateral side. In *B. mori* these palpi originate from the dorsolateral side of the prementum (Fig. 2A). When the speed of spinning is artificially increased the Eri silk fibre starts crystallizing at the anterior part of the silk gland. In *B. mori* the uniform silk fibre is secreted as two closely associated fibres (Fig. 3A). Although the Eri silk fibre is also secreted as two closely associated fibres it is highly uneven (Fig. 3B). Depending on the orientation and/or mechanical strength applied during sample preparation, sometimes the closely associated fibre appear as one. The unevenness of the Eri silk fibre is seen near the starting point within the spinneret and it appears to occur during its crystallization from aqueous silk and not due to the variation in the speed of spinning. The morphology and structure of the spinneret was found to be altered at the end of the spinning process.

The silk glands

The size of the silk gland of Eri silkworm increases continuously during larval growth and it is 40 cm in length on the 3rd day of the 5th instar. The circumferences of the middle and posterior silk glands were 5 and 2 times less than that of *B. mori* respectively. Unlike that of *B. mori*, the middle silk glands of Eri are narrow compared to the posterior silk glands and not well distinguished into anterior, middle and posterior regions. The posterior silk glands of Eri are more folded than that of *B. mori*. Again, in contrast to *B. mori* fibroin does not accumulate in the middle silk glands of Eri during the larval growth.

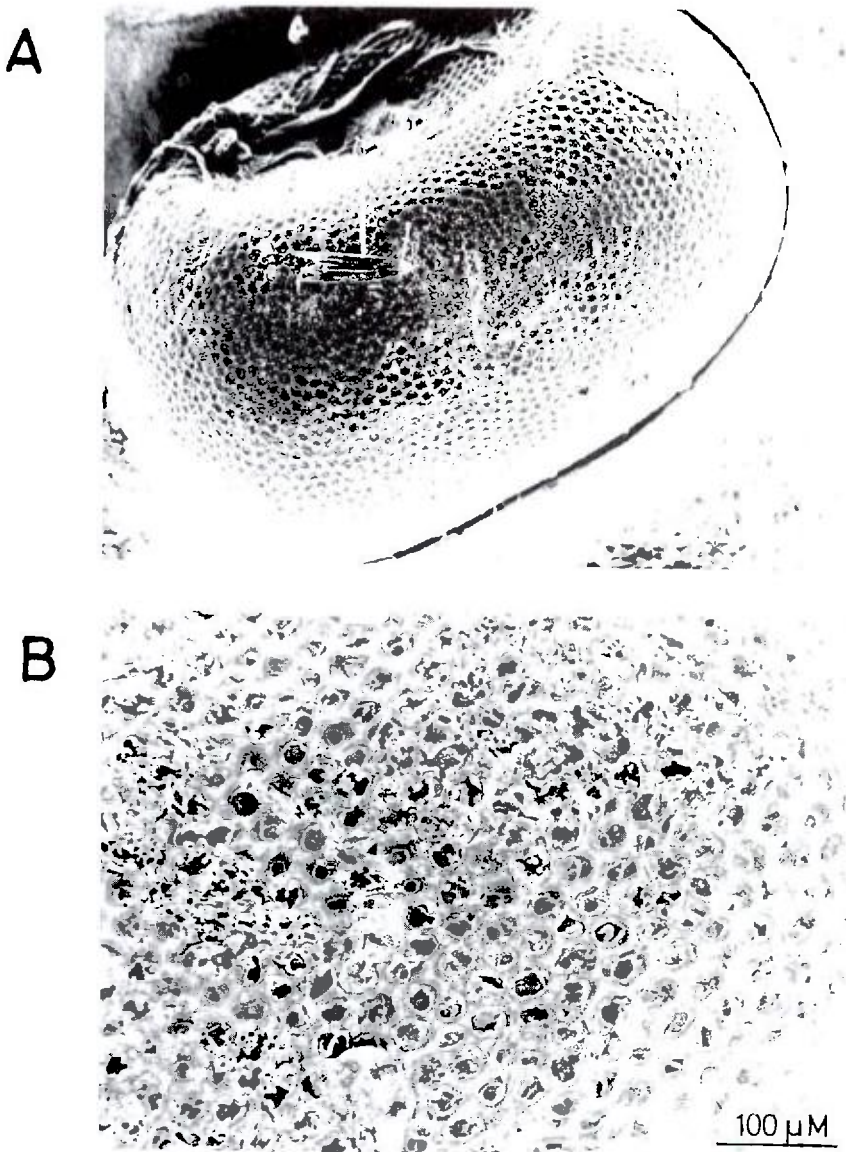


Fig. 6 : Surface structure of the eggs of *P. ricini*.

Scanning electron microscopy of the egg of *Eri* showing the surface (A) (50 $\times$) and micropyle (B) (200 $\times$). First and second day eggs after laying were used.

Fig. 6 : Structure de la surface des oeufs de *P. ricini*.

Observation au microscope électronique à balayage des oeufs *Eri* montrant la surface (A) (50 $\times$) et le micropyle (B) (200 $\times$). On a utilisé des oeufs âgés de 1 à 2 jours après la ponte.

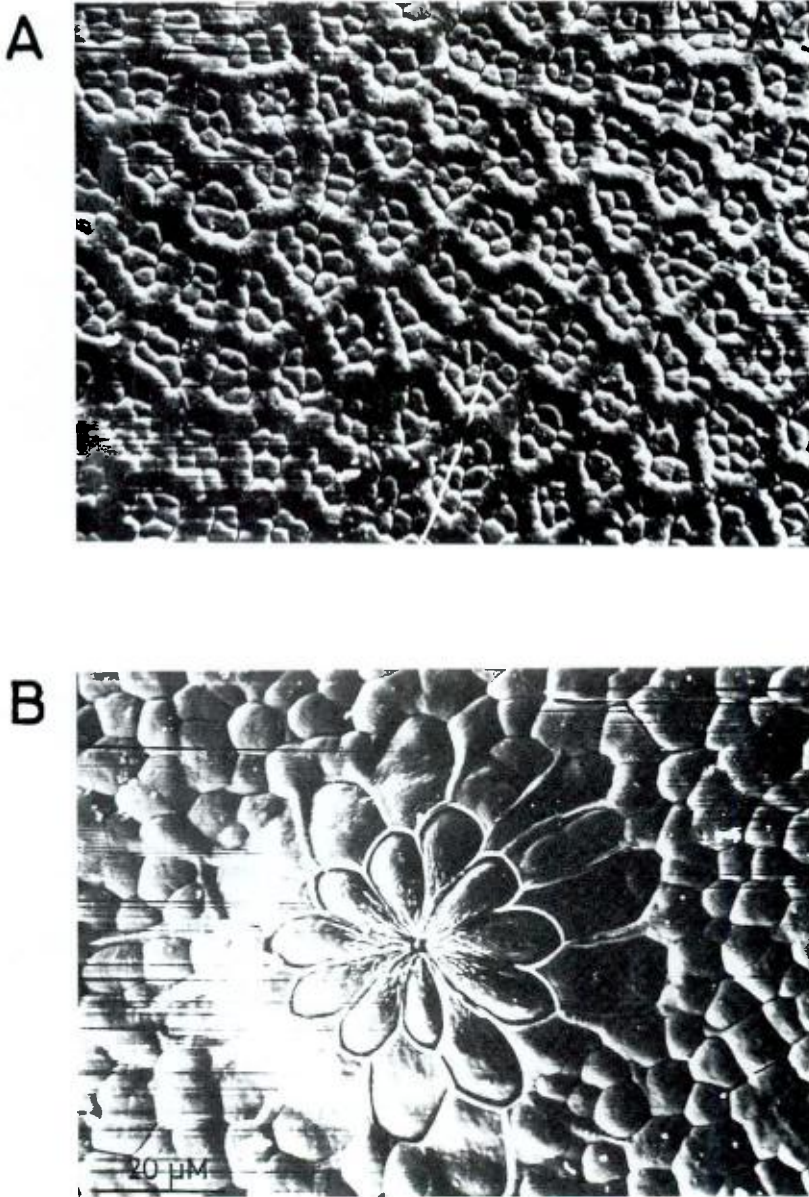


Fig. 7 : Eggs of *B. mori*.

Scanning electron microscopy of the *B. mori* eggs showing the surface (A) and micropyle (B).

Fig. 7 : Oeufs de *B. mori*.

Observation au microscope électronique à balayage des oeufs de *B. mori* montrant la surface (A) et le micropyle (B).

The surface of the anterior, middle and posterior silk glands of *B. mori* were found to be smooth and only the middle silk gland shows minor surface foldings. The anterior and middle silk glands of Eri silkworms, on the other hand, show several surface depression (Fig. 4A, B, D and E). These were not changed during the larval growth. Regular prominent foldings are observed throughout the surface of the posterior silk glands (Fig. 4C and F). These foldings may aid in the accumulation of the fibroin in the posterior silk gland during larval growth. Alternatively, they may be important in the increased absorption of free amino acids which are used for the fibroin synthesis at the expense of other tissues, gut and integuments when the animal stops feeding. Fig. 5 shows the accumulation of fibroin at the cut end of the posterior silk gland.

The eggs

The eggs of Eri silkworms are ovoid and flat at the region where they attach to other eggs and weigh around 1,500 eggs to a gram. The surface shows hexagonal spots with no subdivisions (Fig. 6A). The micropyle is situated at the anterior side and is not well distinguished like that of *B. mori* (Fig. 6B). The eggs of *B. mori* are flat and tiny, and weigh around 2,000 eggs to a gram. The surface shows hexagonal patches which are subdivided into smaller units unlike that of Eri (Fig. 7A). The micropyle is situated at the anterior pole and slightly off centre (Fig. 7B).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr Punjabakeshan of Materials Research Laboratory and G.S. Avadhani of the Department of Metallurgy, Indian Institute of Science, for the electron microscopy. Financial assistance from the Department of Science and Technology and Department of Biotechnology (Govt. of India) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- IZUKA E. (1983), The physicochemical properties of silk fibers and fiber spinning process. *Experientia*, 39, 449-454.
JOY O., SHYAMALA B. (1986), Non-spinning syndrome in silkworm *B. mori* L. *Sericologia*, 26, 503-512.
KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARAJ N. (1970), *FAO Agricultural Manual, Sericulture Manual*. 2, 13.

ULTRASTRUCTURE DE LA TÊTE, DE LA FILIÈRE, DE LA GLANDE SERICIGÈNE ET DE L'OEUF DU VER À SOIE ERI *PHILOSAMIA RICINI*

P.M. NAMBIAR, N.A. PRAKASH & K.P. GOPINATHAN*

Department of Microbiology and Cell Biology and Centre for Genetic Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore - 560 012, Inde.

On a réalisé une étude au microscope électronique à balayage de la tête, de la filière, de la glande séricigène et des oeufs du ver à soie Eri (Philosamia ricini). L'une des caractéristiques principales est la présence d'une paire de fortes excroissances en-dessous de la mandibule qui sont rudimentaires ou absentes chez Bombyx mori. Le système de filage de la fibre, la filière, est de forme circulaire et l'ouverture est située au centre. Sur la partie dorsale de la filière se trouve une structure sclérosée triangulaire dont le sommet coïncide avec l'ouverture de la filière. La base de cette structure triangulaire coïncide avec l'extrémité proximale du prementum. Au sommet de la filière se trouve une paire de palpes qui permet peut-être d'aider les larves fileuses à sectionner les fibres de manière intermittente, donnant ainsi des cocons à bouts ouverts. Des structures en forme de papille gustative sont réparties sur la partie proximale du mentum. Les fibres de soie sont irrégulières et sécrétées sous la forme de deux fibres étroitement liées. Le sécréteur et le réservoir de la glande séricigène du ver à soie Eri présentent plusieurs dépressions. On distingue des feuilletts superficiels proéminents sur le sécréteur. L'ultrastructure des oeufs du ver à soie Eri est également décrite dans cet article.

INTRODUCTION

Les principales espèces de vers à soie utilisés à des fins commerciales en Inde sont : le ver à soie du mûrier (*Bombyx mori*), le ver à soie Eri (*Philosamia ricini*), le ver à soie Tasar (*Antheraea mylitta* et *Antheraea pernyi*) et le ver à soie Muga (*Antheraea assama*). La structure de la tête de *Bombyx mori* a été décrite par Krishnaswamy et coll. (1983). La bave est filée selon un double processus de tirage et d'éjection de la soie par la filière à une vitesse variant de 0,4 à 1,5 cm/sec. Le stress mécanique qui accompagne l'expulsion de la soie aqueuse entraîne la coagulation des molécules de fibroïne. Cependant, il est évident qu'une transition α à β de la fibroïne se produit au cours de l'effort de cisaillement, α étant une configuration désordonnée (Izuka, 1983). Il se peut que la sérécine qui enveloppe la fibroïne permette à celle-ci de passer plus facilement à travers le bec après avoir durci. On remarque que la morphologie de la filière est modifiée chez le ver à soie *Bombyx mori* atteint du syndrome de non filage (Joy et coll., 1986).

Le ver à soie Eri (*Philosamia ricini*) est un lépidoptère domestique qui peut être élevé en intérieur. C'est un insecte polyvoltin qui peut avoir de 4 à 6 cycles par an. Les larves se nourrissent principalement de feuilles de ricin (*Ricinus communis*) d'où elles tirent leur nom. En période de croissance, elles muent quatre fois et passent par cinq âges larvaires. Entre le 5^e et le 7^e jour du cinquième âge, la larve arrive à maturité, cesse de s'alimenter, élimine tout élément solide ou liquide de son tube digestif et commence à filer son cocon. Le cocon filé par le ver à soie Eri est ouvert et la

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

bave n'est ni continue ni uniforme quant à l'épaisseur. Les cocons sont blancs, allongés et mesurent environ 4 à 5 cm de long. L'ultrastructure du système de filage de la fibre du ver à soie Eri n'a jamais été décrite. Cet article présente l'ultrastructure de la filière du ver à soie Eri et on établit une comparaison avec celle de *Bombyx mori*.

MATERIELS ET METHODES

Les oeufs du ver à soie Eri (*Philosamia ricini*) ont été fournis par le Regional Tasar Research Centre, B.R. Hills, Mysore, Inde. Ils sont placés dans un incubateur BOD à 28 °C. Les larves écloses sont nourries sur des feuilles de ricin entières jusqu'à la fin du cinquième âge. Au début du filage, la tête et la fibre de soie sont coupées et fixées dans de la glutaraldéhyde à 4 % dans un tampon phosphate à pH 7,0 pendant 4 heures. L'échantillon est retiré progressivement et lavé dans un tampon phosphate à pH 7,0, déshydraté et monté sur une grille à l'aide de résine de graphite ou de peinture d'argent. Le spécimen est enduit d'or pendant trois minutes.

La glande séricigène du ver à soie Eri est prélevée au troisième jour du cinquième âge et disséquée dans un tampon stérile de citrate de sodium-chlorure de sodium (SCS) et traitée en vue de l'observation au microscope selon le procédé décrit ci-dessus. Les spécimens de *B. mori* de la souche NB4D2 sont préparés selon la même méthode. L'étude de l'ultrastructure est effectuée à l'aide de l'appareil stéréoscopique Cambridge S-150 ou d'un microscope électronique à balayage JEOL JSM-840 A. La tension utilisée dans les deux cas est de 20 KV.

RESULTATS ET DISCUSSION

Ultrastructure de la tête, de la filière et de la fibre :

Les clichés pris au microscope électronique à balayage de la tête et de la filière du ver à soie Eri sont présentés sur la figure 1. La tête est recouverte de soies (t) (Fig. 1A). On observe six paires d'yeux larvaires (d) qui sont situés derrière et un peu au-dessus de la base des antennes (c) sur le côté latéral. L'antenne est composée de cinq segments et est plus protubérante que celle de *B. mori* (Fig. 1A). Elle mesure environ 1,2 mm de long, ce qui est environ quatre fois plus que celle de *B. mori*. Entre la mandibule et la mâchoire se trouve une paire de fortes excroissances (e) mesurant 600 µm de long qui sont rudimentaires ou absentes chez *B. mori* (Fig. 1B et 2A). Il se peut que ces excroissances latérales soient le résultat d'une adaptation aux feuilles de ricin qui sont épaisses, lobées et moins lisses que les feuilles de mûriers. Le maxille (f) sur le côté intérieur de la bouche est formé de stipes, de cardos, de lobes maxillaires et de palpes maxillaires (signalés par les lettres g, h, i, il et j dans les figures 1B et 1C). Le ver à soie Eri possède deux lobes maxillaires à la différence de *B. mori* qui n'en possède qu'un et le lobe ventral (il) est composé d'un seul palpe. Les stipes et le cardo du maxille de *B. mori* sont plus petits et ne sont pas très distincts. On pense que le lobe et les palpes maxillaires permettent de distinguer le goût de la nourriture. Le labium (k) comporte un mentum légèrement chitineux (l) qui possède plusieurs structures (10 µm) en forme de bouton (n) sur la partie dorsale près de la bouche (Fig. 1B et Fig. 1C). On ne connaît pas la fonction exacte de ces boutons mais ils pourraient servir de papilles gustatives.

La filière (o) est de forme circulaire et d'un diamètre de 173 µm contrairement à *B. mori* chez qui elle est tubiforme (Fig. 2, o). L'ouverture (u) est située au centre de la filière et a un diamètre de 31 µm. La partie dorsale de la filière fait apparaître une structure sclérotisée triangulaire (p). La base de la structure triangulaire sclérotisée correspond au sommet du prementum. L'ouverture de la filière (u) aboutit au sommet de la structure sclérotisée. La structure sclérotique et les barres sclérotiques des stipes maxillaires régulent le mouvement de la filière. Ces caractéristiques minimisent le mouvement de la filière et empêche la larve Eri de produire des cocons spacieux comme ceux de *B. mori*. La barre sclérotisée médiane (v) de *B. mori* est plus large au sommet de la filière et plus étroite à la base (Fig. 2A et B). Chez le ver à soie Eri, la structure sclérotisée se termine par une paires de palpes (r) de 10 µm de long au sommet de la filière (Fig. 1D). Ces palpes sont inexistantes chez *B. mori* et leur fonction n'est pas bien connue. Ils peuvent permettre aux larves de sectionner la bave de façon intermittente, entraînant ainsi la production des cocons à bouts ouverts caractéristiques du

ver à soie Eri. La fibre sécrétée n'occupe qu'une petite partie de l'ouverture (Fig. 1D). Ces fibres contiennent 20 % de sérécine.

Les palpes sensoriels labiaux (q) sont situés en-dessous des maxilles à la base du prementum sur la partie latérale. Chez *B. mori*, ces palpes partent de la partie dorsolatérale du prementum (Fig. 2A). Quand on augmente artificiellement la vitesse de filage, la fibre de soie Eri commence à se cristalliser dans la partie antérieure de la glande sérécigène. Chez *B. mori*, la bave de soie uniforme est sécrétée sous la forme de deux fibres étroitement liées (Fig. 3A). Bien que la fibre de soie Eri soit également sécrétée de cette manière, elle est hautement irrégulière (Fig. 3B). Suivant l'orientation et/ou la force mécanique appliquée au cours de la préparation de l'échantillon, les deux fibres étroitement liées apparaissent parfois comme une seule fibre. On peut voir l'irrégularité de la fibre de soie Eri près du point de départ à l'intérieur de la filière et il semble qu'elle se produise au cours de la cristallisation de la soie aqueuse et qu'elle ne soit pas due à une variation de la vitesse de filage. On a observé que la morphologie et la structure de la filière sont modifiées à la fin du processus de filage.

Glandes sérécigènes :

La taille de la glande sérécigène du ver à soie Eri augmente de façon continue au cours de la croissance larvaire et atteint 40 cm de long au troisième jour du cinquième âge. Les circonférences du réservoir et du sécréteur sont respectivement 5 et 2 fois plus petites que chez *B. mori*. Contrairement à *B. mori*, le réservoir du ver à soie Eri est plus étroit que le sécréteur et les régions antérieure, médiane et postérieure ne sont pas très distinctes. Le sécréteur du ver à soie Eri a une structure plus plissée que celui de *B. mori*. Là encore, contrairement à *B. mori*, la fibroïne ne s'accumule pas dans le réservoir du ver à soie Eri au cours de la croissance larvaire.

La surface des glandes sérécigènes antérieure, médiane et postérieure de *B. mori* est lisse, seul la partie moyenne de la glande sérécigène présentant quelques plis superficiels. Par contre, les parties antérieure et moyenne de la glande sérécigène du ver à soie Eri présentent plusieurs dépressions superficielles (Fig. 4A, B, D and E). Celles-ci ne subissent aucune modification au cours de la croissance larvaire. On remarque des plis réguliers proéminents sur toute la surface du sécréteur (Fig. 4C et F). Il se peut que ces plis facilitent l'accumulation de fibroïne dans le sécréteur au cours de la croissance larvaire. Il est par ailleurs possible qu'ils jouent un rôle important dans l'augmentation de l'absorption des acides aminés libres qui servent à synthétiser la fibroïne aux dépens des autres tissus, principalement de l'intestin et du tégument quand l'animal arrête de se nourrir. La figure 5 montre l'accumulation de fibroïne sur une extrémité sectionnée du sécréteur.

Oeufs :

Les oeufs du ver à soie Eri sont ovoïdes et la partie qui s'attache aux autres oeufs est aplatie ; il y a environ 1 500 oeufs par gramme. La surface présente des taches hexagonales sans subdivision (Fig. 6A). Le micropyle est situé sur la partie antérieure et n'est pas très distinct, contrairement à celui de *B. mori* (Fig. 6B). Les oeufs de *B. mori* sont plats et petits ; il y a environ 2 000 oeufs par gramme. Leur surface présente des plaques hexagonales subdivisées en unités plus petites, contrairement au ver à soie Eri (Fig. 7A). Le micropyle est situé sur le pôle antérieur et légèrement décalé par rapport au centre (Fig. 7B).

INFLUENCE OF SOFTENED WATER IN MULBERRY SILK REELING

T. N. SONWALKAR, M. K. MAJUMDAR & J. PRABHU

Central Silk Technological Research Institute, B.T.M. Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

In India, reelers generally use water from bore-well, open well, river etc., without testing the water quality. This paper has dealt in finding out the importance of softened water in reeling. Water from different sources was collected and tested for total hardness and pH. The sample water was treated with two chemicals, namely 1) Disodium salt of EDTA and 2) Sodium hexametaphosphate to bring down the total hardness to about 90 ppm. The reeling was conducted with untreated and treated water. It was observed that chemically softened water (about 90 ppm) improved cooking/reeling performance and quality of silk. Out of two chemicals EDTA was preferred to sodium hexametaphosphate which gave a slippery feeling during the reeling process.

EDTA was supplied to the reelers at Ramanagaram and Siddlaghatta for field trial. After field trials the reelers showed keen interest in using the chemical for softening the water during silk reeling, as they got better quality silk with higher return.

Keywords : Total hardness, pH, charkha, cottage basin, multiend reeling machine.

INTRODUCTION

In India, there are three distinct reeling devices in mulberry sector, namely charkha, cottage basin and multiend filature basin. The production contribution of charkhas and cottage basins together is about 90 % of the total raw silk production which are owned by individual reelers. Reelers generally use water from available sources in their reeling unit without knowing the water quality. Whereas water softening plants are used in some filatures where boilers are used.

A reeler intends to produce raw silk of better qualities such as colour, luster, fineness and uniformity in the size of the thread. In addition to this, the other qualities like winding breaks, tenacity, elongation and cohesion are also required. The above characteristics depend upon the quality of cocoons, type of reeling apparatus and skill of labour in the different reeling operations. Another important aspect to produce quality raw silk is the quality of water which influences the cooking and reeling performance.

Two major properties of water which influence the cooking/reeling performance and quality of raw silk are total hardness and pH. The permissible water for reeling should have the following properties :

- (i) Water should be colourless and limpid,
- (ii) pH should be 6.8 - 7.4 (cold),
- (iii) Total hardness should be 35-90 PPM.

Water from various sources has different pH value and total hardness. Water qualities vary depending on weather conditions and also composition of the soil. Since silk is highly hygroscopic,

the dissolved substances present in reeling water will affect the cooking/reeling efficiency and quality of raw silk.

The above facts encouraged to take up systematic research studies on influence of softened water in mulberry silk reeling such as quality of water and its effect on cooking/reeling performance and also on the quality of raw silk.

MATERIALS AND METHODS

Water from different sources, mainly from Bangalore tap, Bangalore bore well, Siddlaghatta open well, Mambally bore well and Ramanagaram bore well, was collected and tested for total hardness and pH. The procedure followed for water analysis was same throughout the experiment.

Testing of total hardness

100 cc of the sample water were pipetted out in a 250 cc conical flask and to this 2-3 cc of ammonia buffer solution were added. This mixture was titrated against 0.02 N EDTA using Eriochrome black T as an indicator.

Testing of pH

The pH of water was measured with the help of a pH meter and pH indicator paper.

Three lots of multivoltine hybrid cocoons each weighing about 20 kg were purchased from the Government cocoon market, Ramanagaram, for this experiment. Twenty-five cocoons from each lot were analysed for cocoon quality assessment. The results are given in Table I. The cocoons were dried by hot air method on a conveyor stifling machine for reeling purpose. After drying, 1 kg of cocoons was taken for each replication of reeling with untreated and treated water. From each lot, two replications each were made for untreated and treated water.

Table I. Characteristics of cocoon lots.

Tableau I. Caractéristiques des lots de cocons.

Sl. no. N° de série	Particulars Caractéristiques	Lots		
		1	2	3
1	Single cocoon weight / Poids d'un cocon (g)	1.720	1.528	1.562
2	Single shell weight / Poids d'une coque (g)	0.282	0.263	0.254
3	Shell percentage / % de richesse soyeuse	16.4	17.2	16.2
4	Average filament length / Longueur moyenne de la bave (m)	601	716	728
5	Average non-breakable filament length	463	597	546
5	Longueur moyenne d'un fil sans casse			
6	Denier / Denier	2.39 ^d	2.30 ^d	2.46 ^d

The cocoons of the first lot were reeled with three different sources of water, namely Bangalore bore well water, Bangalore tap water and Siddlaghatta open well water, both in untreated and treated with EDTA, totalling 12 replications. In addition, the pH of Siddlaghatta open well water was brought down to 7 by adding acetic acid since the pH was as high as 8. The results are given in Table II.

Table II. Reeling performance and quality of raw silk (lot 1).

Tableau II. Performances au dévidage et qualité de la soie grège (lot 1).

Sl. no.	Particulars	Bangalore bore well water*		Bangalore tap water		Siddlaghatta open well water	
		Before treatment	After treatment with EDTA	Before treatment	After treatment with EDTA	Before treatment	After treatment with EDTA
N° de série	Caractéristiques	Eau de puits de Bangalore*		Eau de ville de Bangalore		Eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta	
		Avant traitement	Après traitement à l'EDTA	Avant traitement	Après traitement à l'EDTA	Avant traitement	Après traitement à l'EDTA
1	Total hardness / Dureté totale (ppm)	86	-	144	80	218	85
2	Water pH / pII de l'eau	7	-	7	7	8	7
3	Cooking temperature (°C)	95	-	95	95	95	95
3	Température de cuisson (°C)						
4	Cooking time / Temps de cuisson (min.)	5	-	5	5	6	6
5	Cooking efficiency	93	-	90.5	95	90.5	93
5	Efficacité de cuisson						
6	Rendita / Rendement à la bassine	11.0	-	11.6	11.1	12.0	11.0
7	Raw silk recovery (%)	55.3	-	55.5	54.9	50.7	55.3
7	% de soie grège obtenue						
8	Winding breaks/hr/skein	3	-	3	2	3	2
8	Casses à l'enroulement/heure/flotte						
9	Average size / Titre moyen (d)	30.0	-	29.5	24.0	27.5	31.0
10	Size deviation / Déviation du titre	3.67	-	5.27	2.35	2.65	3.36
11	Tenacity / Résistance (g/d)	3.70	-	4.07	4.22	3.92	4.12
12	Elongation / Elasticité (%)	19.1	-	20.14	18.44	22.83	23.19
13	Degumming loss	20.80	-	20.30	21.06	21.20	22.10
13	Perte au décreusage (%)						

* No treatment / Pas de traitement.

Table III. Reeling performance and quality of raw silk (lot 2).

Tableau III. Performances au dévidage et qualité de la soie grège (lot 2).

Sl no.	Particulars	Mamballi bore well water			Ramanagaram bore well water		
		Before treatment	After treatment with EDTA	After treatment with SHMP*	Before treatment	After treatment with EDTA	After treatment with SHMP*
N° de série	Caractéristiques	Eau de puits à ciel ouvert de Mamballi			Eau de puits à ciel ouvert de Ramanagaram		
		Avant traitement	Après traitement à l'EDTA	Après traitement avec SHMP*	Avant traitement	Après traitement à l'EDTA	Après traitement avec SHMP*
1	Total hardness / Dureté totale (ppm)	342	90	90	372	90	90
2	Water pH / pH de l'eau	7	7	7	7	7	7
3	Cooking temperature (°C)	95	95	95	95	95	95
3	Température de cuisson (°C)						
4	Cooking time / Temps de cuisson (min.)	3	3	3	3	3	3
5	Cooking efficiency / Efficacité de cuisson	98	99	99	98	98	99
6	Renditta / Rendement à la bassine	9.5	9.1	8.9	9.6	8.5	9.3
7	Raw silk recovery (%)	61.5	64.0	65.8	60.9	68.4	62.6
7	% de soie grège obtenue						
8	Winding breaks/hr/skein	5	2	2	1	0	0
8	Casses à l'enroulement/hr/flotte						
9	Average size (d) / Titre moyen (d)	24.32	24.66	27.92	28.96	26.98	25.60
10	Size deviation / Déviation du titre	2.62	2.05	3.42	4.51	2.94	2.79
11	Tenacity / Résistance (g/d)	3.17	3.23	3.70	3.85	3.90	4.13
12	Elongation / Elasticité (%)	20.58	21.31	22.94	20.26	20.10	18.70
13	Degumming loss / Perte au décreusage (%)	21.4	21.0	21.9	20.8	22.2	20.0

* sodium metahexaphosphate / métahexaphosphate de sodium.

Table IV. Reeling performance and quality of raw silk (lot 3).

Tableau IV. Performances au dévidage et qualité de la soie grège (lot 3).

Sl. no.	Particulars	Bangalore tap water		Siddlaghatta open well water	
		Before treatment	After treatment with sodium hexametaphosphate <i>Eau de ville de Bangalore</i>	Before treatment	After treatment with sodium hexametaphosphate <i>Eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta</i>
N° de série	Caractéristiques	Avant traitement	Après traitement à l'hexamétaphosphate de sodium	Avant traitement	Après traitement à l'hexamétaphosphate de sodium
1	Total hardness / <i>Dureté totale</i> (ppm)	120	90	208	90
2	Water pH / <i>pH de l'eau</i>	7	7	8	7
3	Cooking temperature / <i>Température de cuisson</i> (°C)	95	95	95	95
4	Cooking time / <i>Temps de cuisson</i> (min.)	3	3	3	3
5	Cooking efficiency / <i>Efficacité de cuisson</i>	98	99	98	100
6	Renditta / <i>Rendement à la bassine</i>	8.81	8.65	9.14	8.80
7	Raw silk recovery (%) / <i>% de soie grège obtenue</i>	66.9	68.2	64.5	66.9
8	Winding breaks/hr/skein	3	2	3	2
8	<i>Casses à l'enroulement/hr/flotte</i>				
9	Average size / <i>Titre moyen</i> (d)	29.5	23.0	27.5	24.5
10	Size deviation / <i>Déviation du titre</i>	5.27	1.49	2.65	1.6
11	Tenacity / <i>Résistance</i> (g/d)	4.07	4.29	3.92	4.27
12	Elongation / <i>Elasticité</i> (%)	20.14	19.62	22.8	19.9
13	Degumming loss / <i>Perte au décreusage</i> (%)	20.3	21.66	21.20	22.71

The cocoons of the second lot were reeled with two different sources of water, namely Mamballi bore well water and Ramanagaram bore well water. Both untreated water as well as water treated with EDTA and sodium hexametaphosphate were used totalling 12 replications. The results are given in Table III.

The cocoons of the third lot were reeled with two different sources of water, namely Bangalore tap water and Siddlaghatta open well water. Untreated water and water treated with sodium hexametaphosphate were used totalling 8 replications. The results are given in Table IV.

The water from all the sources mentioned above was treated with EDTA and sodium hexametaphosphate to bring down the total hardness to 80 - 90 ppm. This hardness level was found to be satisfactory since the reeling performance with Bangalore bore well having a hardness of 86 ppm was better. Accordingly, the required quantity of chemicals was used to soften to the level of 80-90 ppm, before reeling with treated water.

The reeling was carried out on cottage basin at the same speed of 90 mpm throughout the experiment, associated with open pan cooking at boiling point.

RESULTS AND DISCUSSION

Water from various sources showed (Table II, Table III) significant difference in total hardness in the range of 86-372 ppm in Bangalore bore well water and Ramanagaram bore well water respectively.

From the tables, it is seen that there was a significant improvement in reeling performance with chemically treated water. Throughout the study there was a steady improvement in renditta, i. e. raw silk recovery increased to the extent of 1.8 % to 13.3 %.

There was no significant variation in pH values amongst the water from various sources excepting Siddlaghatta open well water as mentioned earlier.

From the quality test results, it was evident that the winding breaks were reduced considerably when reeled with treated water. The increase in tenacity was in the range of 1.3 % to 5.1 % in case of raw silk reeled with EDTA treated water and 5.4 % - 16.7 % in the case of raw silk reeled with sodium hexametaphosphate treated water. There was no apparent difference in elongation and degumming loss between the silk reeled with treated and untreated water.

It was observed that sodium hexametaphosphate gave a slippery feeling making it difficult in feeding at the time of reeling process. Further, the silk reeled with water treated with sodium hexametaphosphate became hard and sticky after drying and also raw silk colour was not uniform whereas raw silk reeled with water treated with EDTA showed a uniform colour giving a soft feel. Therefore it was decided to recommend EDTA for softening the water though it is costlier than sodium hexametaphosphate. However, the cost of EDTA per kg of raw silk to soften water 200 ppm to 90 ppm is worked out to be about Rs.10/-.

Field trials were conducted by supplying EDTA to the reelers at Ramanagaram and Siddlaghatta. The reelers felt happy with the reeling performance and also they got better quality with higher returns.

CONCLUSION

The Institute is preparing a scheme for effective use of these chemicals in all the reeling areas. Further studies are also under progress for making the process more economical.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Shri S. Ananthanarayan and Shri Gangadhar, Technical Assistants, for their assistance in the experiment.

REFERENCES

- BYUND H. K. (1983), Filature water engineering. Sericulture Consultancy Services, Korea, 29, 59-62.
- SADOV, KORCHAGIN, MATETSKY (1978), Chemical technology of fibrous materials, MIR Publishers, Moscow, 155-157.
- SHENAI, MEHRA (1984), Evaluation of textile chemicals. Sevak Publications, Bombay, 162.
- SONWALKAR T.N. (1982), Technical report on silk industry in Japan. Central Silk Board Official Report, Bangalore, 26-27.
- SONWALKAR T.N. (1985), Silk reeling and handicrafts. Sericologia, 25(2), 183-205.

INFLUENCE DE L'EAU ADOUCIE SUR LE DEVIDAGE DE LA SOIE MURIER

T.N. SONWALKAR, M.K. MAJUMDAR & J. PRABHU

Central Silk Technological Research Institute, B.T.M. Layout, Madivala, Bangalore 560 068, Inde.

En Inde, les filateurs utilisent généralement l'eau de puits forés, de puits à ciel ouvert, des rivières, etc. sans tester la qualité d'eau. Cet article vise à déterminer l'importance de l'adoucissement de l'eau pour la filature. De l'eau provenant de différentes origines est prélevée et testée pour en établir la dureté totale et le pH. Les échantillons d'eau sont traités avec deux agents chimiques, 1) l'EDTA disodique et 2) l'hexamétophosphate de sodium, pour réduire la dureté totale de l'eau à environ 90 ppm. Le dévidage est effectué avec de l'eau traitée et de l'eau non traitée. On observe que l'eau adoucie chimiquement (environ 90 ppm) permet d'améliorer la performance de cuisson/dévidage et la qualité de la soie. Des deux agents chimiques utilisés, l'EDTA se révèle plus performant que l'hexamétophosphate de sodium qui donne un toucher glissant au cours du dévidage.

L'EDTA a été fournie aux tireurs de soie de Ramanagaram et de Siddlaghatta pour l'expérimentation sur le terrain. Après les expériences, les filateurs se sont montrés vivement intéressés par l'utilisation d'agents chimiques pour adoucir l'eau au cours du dévidage car ils obtiennent une meilleure qualité de soie et un meilleur rendement.

INTRODUCTION

En Inde, il y a trois méthodes distinctes de dévidage de la soie mûrier, à savoir : la charkha, la bassine de ferme et la bassine de filature multibouts. La contribution totale des charkhas et des bassines de ferme qui appartiennent à des filateurs privés représente environ 90 % de la production totale de soie grège. Les filateurs utilisent généralement l'eau disponible dans leur unité de dévidage sans en connaître la qualité, alors que des adoucisseurs d'eau sont utilisés dans certaines filatures pourvues de chaudières.

Le filateur cherche à produire de la soie grège de qualité supérieure en ce qui concerne la couleur, le lustre, la finesse et l'uniformité du titre du fil. Les qualités telles que la cassure à l'enroulement, la résistance, l'élasticité et la cohésion sont également souhaitées. Les caractéristiques ci-dessus dépendent de la qualité des cocons, du type de machine à dévider et du savoir-faire de la main d'oeuvre aux différents stades du dévidage. Un autre aspect important de la production de soie grège est la qualité de l'eau qui influence la cuisson et le dévidage.

Deux propriétés majeures de l'eau qui influencent la performance de cuisson/dévidage et la qualité de la soie grège sont la dureté de l'eau et son pH. L'eau de dévidage doit avoir au moins les propriétés suivantes :

- 1) elle doit être incolore et limpide,
- 2) son pH doit être de 6,8 à 7,4 (froid),
- 3) sa dureté totale doit être de 35 à 90 ppm.

La valeur du pH et la dureté de l'eau varient en fonction de son origine. La qualité de l'eau dépend des conditions météorologiques ainsi que de la composition du sol. La soie étant hautement

hygroscopique, les substances dissoutes présentes dans l'eau de dévidage affectent l'efficacité de la cuisson/du dévidage et la qualité de la soie grège.

Les remarques ci-dessus mettent en évidence la nécessité d'entreprendre des recherches systématiques sur l'influence de l'adoucissement de l'eau sur le dévidage de la soie mûrier, particulièrement sur la qualité de l'eau et son effet sur la performance de cuisson/de dévidage ainsi que sur la qualité de la soie grège.

MATERIELS ET METHODES

De l'eau de différentes origines, à savoir : l'eau de ville de Bangalore, l'eau de puits de Bangalore, l'eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta, l'eau de puits de Mambally et l'eau de puits de Ramanagaram, est prélevée et testée pour en évaluer la dureté totale et le pH. La méthode suivie pour l'analyse de l'eau est la même pendant toute la durée du traitement.

Evaluation de la dureté totale :

Un échantillon de 100 cc d'eau est versé dans un becher de 250 cc, on y ajoute une solution tampon d'ammoniaque de 2 à 3 cc. Ce mélange est titré contre de l'EDTA à 0,02 N, le noir Eriochrome T servant d'indicateur.

Evaluation du pH :

Le pH de l'eau est mesuré à l'aide d'un pH-mètre et d'un papier indicateur de pH.

Trois lots de cocons hybrides polyvoltins pesant chacun 20 kg ont été achetés au marché aux cocons de Ramanagaram pour cette expérience. La qualité des cocons est estimée à partir de vingt-cinq cocons de chacun des lots. Les résultats sont présentés dans le tableau I. Les cocons sont séchés à l'air chaud dans une machine à étouffer à courroie avant dévidage. Après l'étouffage, 1 kg de cocons est prélevé pour chaque réplikat de dévidage avec de l'eau traitée et non traitée. Deux réplikats par lot sont utilisés dans l'eau traitée et non traitée.

Les cocons du premier lot sont dévidés avec de l'eau de trois origines différentes, à savoir : eau de puits de Bangalore, eau de ville de Bangalore et eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta, non traitée ou traitée à l'EDTA, soit un total de 12 réplikats. De plus, le pH de l'eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta est ramené à 7 par addition d'acide acétique car ce pH atteint 8. Les résultats sont présentés dans le tableau II.

Les cocons du second lot sont dévidés avec de l'eau de deux origines différentes, à savoir : l'eau de puits de Mambally et l'eau de puits de Ramanagaram. De l'eau non traitée et de l'eau traitée à l'EDTA et à l'hexamétaphosphate de sodium sont utilisées, soit au total 12 réplikats. Les résultats sont présentés dans le tableau III.

Les cocons du troisième lot sont dévidés avec de l'eau de deux origines différentes, à savoir l'eau de ville de Bangalore et l'eau de puits à ciel ouvert de Siddlaghatta. L'eau non traitée et l'eau traitée avec de l'hexamétaphosphate de sodium sont utilisées, soit un total de 8 réplikats. Les résultats sont donnés dans le tableau IV.

L'eau de toutes les origines mentionnées ci-dessus est traitée à l'EDTA ou à l'hexamétaphosphate de sodium pour réduire la dureté totale à 80-90 ppm. On observe que ce niveau de dureté est satisfaisant, la performance de dévidage avec l'eau de puits de Bangalore d'une dureté totale de 86 ppm étant meilleure. On a donc utilisé les quantités requises des produits chimiques nécessaires pour obtenir de l'eau à 80-90 ppm avant le dévidage à l'eau traitée.

Le dévidage est effectué dans une bassine de ferme à la vitesse uniforme de 90 mpm pendant toute l'expérience ; la cuisson se fait dans une casserole ouverte au point d'ébullition.

RESULTATS ET DISCUSSION

La dureté de l'eau diffère significativement (entre 86 et 372 ppm) en fonction des sources (tableaux II et III).

La lecture des tableaux montre qu'il y a une amélioration significative de la performance de dévidage avec l'eau traitée chimiquement. Tout au long de l'étude, le rendement à la bassine s'est amélioré de façon constante, l'augmentation de soie grège obtenue allant de 1,8 à 13,3 %.

Il n'y a aucune variation significative des valeurs de pH entre les eaux des différentes origines sauf pour l'eau de puits de Siddlaghatta, ainsi qu'il est mentionné plus haut.

D'après les résultats des tests de qualité, il est évident que le nombre de cassures diminue considérablement lorsque les cocons sont dévidés avec de l'eau traitée. L'augmentation de la résistance de la soie grège dévidée varie de 1,3 à 5,1 % pour l'eau traitée à l'EDTA et de 5,4 à 16,7 % pour l'eau traitée avec l'hexamétaphosphate de sodium. Il n'y a aucune différence apparente de l'élasticité et de la perte au décreusage entre la soie dévidée à l'eau traitée et la soie dévidée à l'eau non traitée.

On observe que l'hexamétaphosphate de sodium donne un toucher glissant, rendant le chargement du fil difficile pendant le processus de dévidage. De plus, la soie dévidée à l'eau traitée à l'hexamétaphosphate de sodium devient dure et collante après le séchage et la couleur de la soie grège n'est pas uniforme alors que la soie dévidée à l'eau traitée à l'EDTA a une couleur uniforme et un toucher agréable. Il a donc été décidé de recommander l'EDTA pour adoucir l'eau bien que ce soit plus onéreux que l'hexamétaphosphate de sodium. On a calculé que le coût de l'EDTA pour un kg de soie grège pour adoucir l'eau de 200 ppm à 90 ppm est de 10 roupies.

Les expériences sur le terrain ont été conduites en fournissant l'EDTA aux filateurs de Ramanagaram et de Siddlaghatta. Ils se sont montrés tout à fait satisfaits de la performance de dévidage qui leur a permis d'obtenir une meilleure qualité et des rendements plus élevés.

CONCLUSION

L'Institut met actuellement au point un programme d'utilisation efficace de ces agents chimiques dans toutes les régions de dévidage. Des études complémentaires sont également en cours pour rendre le processus plus économique.

DYEING SILK WITH VEGETABLE DYES. I (ONION SKIN)

M. K. VIJAYEENDRA, V. V. HADIMANI & B. R. DAYAKAR YADAV

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

*In the present study, the onion skin (*Allium cepa* L.) extract has been used for dyeing silk, by making use of different metallic salts like copper sulphate, alum, ferrous sulphate, potassium dichromate and stannous chloride as mordants. Silk could take yellowish brown colour with alum and copper sulphate ; bright yellow with stannous chloride ; blackish brown with ferrous sulphate and cream colour with potassium dichromate. The fastness properties of the dyed materials were tested and the silk was found to have very good fastness to washing, perspiration and light.*

Keywords : Silk dyeing, vegetable dyes, onion skin extract, mordants, fastness tests.

INTRODUCTION

Ever since the beginning of civilisation, mankind has utilised plant dyes (Phadke, 1947), the earliest authentic records concerning silk dyeing was by Chinese dated 2600 BC. During the 17th and 18th centuries, gradually these native dye plants were displaced with the introduction of dye woods. While in the western part of the world, their disuse was practically completed during the 19th century, when the chemical dyes ousted them from the market (Mairet, 1946). To this day, some of the natural dyes and pigments, e.g., logwood, osage orange and bitumen, retain much of their old importance (Anonymous, 1971).

In India, the art of dyeing was earlier practised in the western part of the country. The use of vegetable dyes is more in vogue especially in rural folks, in home industries, handicraft work, kalamkari art painting, impregnating on human skin etc.

In the application of natural dyestuff to the silk, the processes of degumming, mordanting and finally treating with various natural dyestuffs are involved for obtaining different colorations (Phadke, 1947), to obtain yellow colour, flowers and stalks of *Delphinium zaili* are used, orange through *Curcuma longa*, red with *Pistachio vera*, brown from *Acacia arabica* and *Acacia catachu* ; violet with indigofera plants, green by using *Pistachia integerrima* or *Mallotus philippiensis* with combinations and black colour with *Brassica napus* (rape seed).

The onion (*Allium cepa* L.) is well known for its strong taste and odour. In India, it is grown on a large scale and so is its consumption. Also it is used in small quantities because of its medicinal properties. While the outer thin, crispy layer of the bulb, which is either reddish brown to white colour in other varieties, goes as waste, the use of onion skin in dyeing other textile fibres has already been reported on wool (Mairet, 1946) and cotton (Anonymous, 1988). So far, no work has been done on the use of onion skin for dyeing silk. Therefore, in the present study, an attempt is made to use the onion skin to dye mulberry silk with a prior mordanting. Further the dyed materials were subjected to fastness properties.

MATERIALS AND METHODS

In dyeing silk with onion skin extract, two stages are involved, first mordanting and later treating silk with the extract. The mordants used are alum, copper sulphate, ferrous sulphate, potassium dichromate and stannous chloride. The steps involved in the process are as follows :

1. Silk fabric samples :

Yarn degummed silk fabric samples were used for the study. Degumming of the yarn was carried out using 5 gm/l of soap and 5 gm/l of soda at boil for about 90 minutes. The fabric particulars are as follows :

- Type of fabric : Soft silk ;
- Denier of warp : 2-ply 20/22 organzine (700 TPM) ;
- Denier of weft : 2-ply 20/22 tram (400 TPM) ;
- Fabric set (per inch) : 120×100 ;
- Width of fabric : 45" ;
- Weight in g (per m) : 50 ;

2. Mordanting :

Silk fabrics were wetted and then treated with mordant solutions (2 % O.W.F.), for a period of 30 min. at a temperature of about 60-65 °C.

3. Extraction of dye :

Onion skins, weighing about 15 % of the weight of the silk, were boiled in water for a period of 30 min. The extract so obtained was filtered, to get clear reddish brown solution which was used for dyeing.

4. Dyeing :

Previously mordanted fabric samples were treated with the extract of the onion skins at a temperature ranging from 60-70 °C over a period of 60 min. The dyed silk fabrics were then washed and scrooped with acetic acid.

5. Testing of dyed silk :

The dyed silk fabrics were tested for washing and perspiration fastness following Indian Standards Institute Standards (Anonymous, 1982). And for assessing the light fastness (Mathew, 1947), the dyed fabrics were exposed to sunlight for 1-4 weeks from sunrise to sunset. The samples (about 7.6 cm long and 1 cm wide) were arranged to an exposure board, placing in such a manner that one-half of the sample was exposed to light while the other half was protected. The exposure board was kept at an angle of 45° facing south in order to obtain as much sunlight as possible. The degree of fastness to light were classified as :

- Grade I : Not faded in 4 weeks exposure
- Grade II : Not faded in 1 week exposure
- Grade III : Faded in 1 week exposure

RESULTS AND DISCUSSION

The colours obtained on silk fabrics were characteristic of each mordant, i. e. with alum and copper sulphate the colour obtained was yellowish brown, with tin it was bright yellow, blackish brown with ferrous sulphate, and with potassium dichromate it was similar to that obtained with copper sulphate and alum, except for the shade which was lighter.

Table I. Showing the washing fastness* grades of silk fabrics dyed with onion skin extract.

Tableau I. Degrés de solidité des couleurs de tissus de soie teints avec de l'extrait de peau d'oignon.*

Mordant	Staining on		Change in colour Variation de la couleur
	Cotton	Silk	
	Teinture sur Coton	Teinture sur Soie	
Copper sulphate / Sulfate de cuivre	5	4-5	5
Alum / Alun	5	4-5	3
Stannous chloride / Stannochlorure	5	4-5	2
Ferrous sulphate / Sulfate de fer	5	4-5	2
Potassium dichromate / Bichromate de potassium	5	4-5	2

Table II. Showing the perspiration fastness* grades of silk fabrics dyed with onion skin extract.

Tableau II. Degrés de résistance à la transpiration des tissus de soie teints avec de l'extrait de peau d'oignon.*

Test Condition	Acidic			Alkaline		
	Change in colour	Staining on		Change in colour	Staining on	
		Cotton	Silk		Cotton	Silk
<i>Conditions expérimentales</i>		<i>Acides</i>			<i>Alcalines</i>	
<i>Mordant</i>	<i>Variation de la couleur</i>	<i>Teinture sur</i>		<i>Variation de la couleur</i>	<i>Teinture sur</i>	
		<i>Coton</i>	<i>Soie</i>		<i>Coton</i>	<i>Soie</i>
Copper sulphate / Sulfate de cuivre	5	5	5	5	5	5
Alum / Alun	5	5	5	5	5	5
Stannous chloride / Stannochlorure	5	5	5	5	5	5
Ferrous sulphate / Sulfate de fer	5	5	5	5	5	5
Potassium dichromate	5	5	5	5	5	5
<i>Bichromate de potassium</i>						

* As per ISI/ISO standards / D'après les normes ISI/ISO.

Dyed silk fabrics were subjected to washing perspiration fastness tests and the results are tabulated in Table I and Table II respectively. The washing fastness (Table I) of the fabric, dyed using copper sulphate mordant, is found to be excellent, good with alum and moderate with ferrous sulphate, tin and potassium dichromate mordants. The staining of adjacent cotton and silk (undyed) fabrics used along with the test specimen during the washing test is totally nil. This reveals the absence of bleeding of the colour from the dyed samples.

In the case of perspiration fastness (Table II), both in alkaline and acidic conditions, all fabrics mordanted with different metallic salts exhibited very good resistance to perspiration. However, after the perspiration test, the shades were slightly darker under alkaline conditions. It is observed that the fastness to sunlight is very good (Grade I), in the case of all the mordants, i.e. the colour did not fade after four weeks of exposure to sunlight.

CONCLUSION

In the light of the facts observed from the experiment, it can be ensured that onion skin can be advantageously used in dyeing silk. Also, it is possible to obtain different colours using different mordants and different shades by varying the concentrations of onion skin extract. As spelt out already, a large quantity of peeled onion skin goes unused and hence it serves as a cheap raw material for dyeing purpose. Even the extraction processes of the dye are very simple and the whole process of extracting and dyeing in no way adversely affects silk, i. e. the natural lustre and elegance of the silk fibre are preserved.

Further work in this line can be carried out to study the chemical constitution of the colouring matter and economics of dyeing silk with the extraction of onion skin.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the Director of the Institute for having facilitated the work and for permitting them to publish this article.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1971), Colour Index (Vol. 3). III Edition, Publ. by The Soc. of Dyers and Colourists, England, 3225-3255.
ANONYMOUS (1982), ISI Handbook of textile testing. Publ. by Indian Standards Institution, New Delhi.
ANONYMOUS (1988), *In* 'Textile Dyer and Printer'. Vol. XXI, No. 15, 39.
MAIRET E. M. (1946), Vegetable dyes. Publ. by Faber and Faber Ltd., London, 68 p.
MATHEW J. M. (1947), Application of Dye-stuffs. Publ. by John Wiley & Sons. Inc. New York, 678 p.
PHADKE B. N. (1947), History of Dyes and Dyeing in Bombay Presidency. 131 p.

TEINTURE DE SOIE AVEC DES COLORANTS VEGETAUX

I - PEAU D'OIGNON

M. K. VIJAYEENDRA, V.V. HADIMANI & B. R. DAYAKAR YADAV

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

*Dans cette étude, l'extrait de peau d'oignon (*Allium cepa* L.) a été utilisé pour teindre la soie, en utilisant différents sels métalliques tels que le sulfate de cuivre, l'alun, le sulfate de fer, le bichromate de potassium et le chlorure d'étain comme mordant. La soie prend une couleur marron jaunâtre avec l'alun et le sulfate de cuivre ; jaune clair avec le chlorure d'étain ; marron noirâtre avec le sulfate de fer et crème avec du bichromate de potassium. La résistance des couleurs de la soie teinte a été testée et l'on constate une grande résistance au lavage, à la transpiration et à la lumière.*

INTRODUCTION

Depuis le début de la civilisation, l'humanité a utilisé les teintures végétales (Phadke, 1947) ; la toute première soie teinte connue est chinoise et date de 2600 avant JC. Au XVII^e et XVIII^e siècles, ces teintures végétales locales ont peu à peu été supplantées par l'introduction des teintures à base de bois. En Occident, l'utilisation des teintures végétales a été quasiment abandonnée au XIX^e siècle, lorsque les teintures chimiques arrivèrent sur le marché (Mairet, 1946). Depuis, certaines de ces teintures et certains pigments tels que l'extrait de Campêche, l'orange des Osages et le bitume ont conservé une certaine importance (Anonymous, 1971).

En Inde, l'art de la teinture a été pratiquée très tôt dans la partie occidentale du pays. On note une pratique plus courante des teintures végétales au sein des populations rurales, dans les exploitations familiales, l'artisanat, les peintures kalamkari et les tatouages etc.

Au cours de l'application des colorants naturels sur la soie, divers procédés de décreusage dans mordant ainsi que des traitements avec différents colorants naturels sont nécessaires pour l'obtention de différentes colorations (Phadke, 1947). Pour obtenir une couleur jaune, les fleurs et les tiges de *Delphinium zaili* sont utilisées, l'orange est obtenu grâce au *Curcuma longa*, le rouge avec du *Pistachio vera*, le marron avec l'*Acacia arabica* et l'*Acacia catach* ; le violet s'obtient à partir de plantes indigofères, le vert avec *Pistachia integerrima* ou *Mallotus philippiensis* et certaines combinaisons et le noir avec *Brassica napus* (graines de colza).

L'oignon (*Allium cepa* L.), est réputé pour son goût et son odeur. En Inde, il est cultivé à grande échelle et sa consommation est également importante. Il est également utilisé en petites quantités pour ces vertus médicinales. La peau mince, la pellicule craquante du bulbe qui est soit marron rougeâtre jusqu'à blanc dans certaines variétés est éliminée comme déchet. L'utilisation de la peau d'oignon dans la teinture textile a déjà été réalisée sur la laine (Mairet, 1946) et le coton (Anonymous, 1988). Jusqu'à présent aucune étude n'a été faite sur l'utilisation de la peau d'oignon pour la teinture de la soie. Nous avons étudié l'utilisation de la peau d'oignon pour teindre la soie mûrier avec un mordant. Les tissus teints sont soumis aux tests de résistance des couleurs.

MATERIEL ET METHODES

La teinture de la soie avec de l'extrait de peau d'oignon implique deux étapes, tout d'abord le mordantage puis le traitement de la soie avec de l'extrait. Les mordants utilisés sont l'alun, le sulfate

de cuivre, le sulfate de fer, le bichromate de potassium et le chlorure stanneux. Les différentes étapes se déroulent comme suit :

1. Echantillons de soie :

Les échantillons de fil de soie décreusée sont utilisés pour cette étude. Le décreusage du fil se fait en utilisant une solution à 5 gm/l de savon et 5 gm/l de soude portée à ébullition pendant 90 minutes. Les tissus utilisés sont les suivants :

- Type du tissu : soie souple ;
- Denier de la chaîne : 2 ply 20/22 organsine (700 TPM) ;
- Denier de trame : 2 ply 20/22 Tram (400 TPM) ;
- Tissu : 120 × 100 ;
- Largeur du tissu : 45" ;
- Poids en grammes (par mètre) : 50.

2. Mordantage :

Les tissus de soie sont humidifiés puis traités avec des solutions de mordants, (2 % OWF), pendant 30 minutes à une température d'environ 60-65 °C.

3. Extraction du colorant :

Des peaux d'oignons, pesant environ 15 % du poids de la soie sont bouillies dans l'eau pendant 30 minutes. L'extrait ainsi obtenu est filtré afin d'obtenir une solution claire marron rougeâtre qui sera utilisée pour la teinture.

4. Teinture :

Des échantillons de tissu préalablement traités avec un mordant sont alors trempés dans l'extrait de peau d'oignon à une température de 60 à 70 °C pendant 90 minutes environ. Les tissus de soie teints sont alors lavés puis fixés avec l'acide acétique.

5. Tests de la soie teinte :

Les tissus de soie sont alors testés pour leur résistance au lavage et à la transpiration par la méthode de l'Indian Standards Institute (Anonymous, 1982). Afin d'étudier le degré de résistance à la lumière (Mathew, 1947), les tissus sont exposés à la lumière pendant environ une à quatre semaines du lever au coucher du soleil. Les échantillons (environ 7,6 cm de long et 1 cm de large) sont placés sur une planche d'exposition de telle sorte qu'une moitié est exposée à la lumière alors que l'autre moitié est protégée. La planche d'exposition est placée à 45° face au sud de manière à capter un maximum de lumière. Le degré de résistance à la lumière est classé comme suit :

- Grade I : non décoloré après 4 semaines d'exposition ;
- Grade II : non décoloré après 1 semaine d'exposition ;
- Grade III : décoloré après une semaine d'exposition.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les couleurs obtenues sur les tissus de soie caractérisent chaque mordant, à savoir : l'alun et le sulfate de cuivre donnent une couleur marron jaunâtre, avec de l'étain on obtient un jaune clair, marron noirâtre avec du sulfate de fer ; avec du bichromate de potassium la couleur est semblable à celle obtenue avec le sulfate de cuivre et l'alun, sauf pour la partie à l'ombre qui est plus claire.

Les tissus de soie teints sont soumis aux tests de résistance à la transpiration et les résultats figurent dans le tableau I et le tableau II. Le degré de résistance au lessivage (Tableau I) du tissu teint avec le sulfate de cuivre comme mordant est excellent, il est bon avec l'alun et moyen avec le sulfate de fer, l'étain et le bichromate de potassium. La coloration de tissus de coton et de soie (non teints) utilisée en même temps que les spécimens tests du lessivage est nulle. Ceci montre que les échantillons teints ne perdent pas leur couleur.

En ce qui concerne le degré de résistance à la transpiration (Tableau II), tant dans des conditions alcaline qu'acide, tous les tissus fixés avec différents sels métalliques montrent une très bonne résistance. Néanmoins, après le test de transpiration, les ombres étaient légèrement plus sombres en condition alcaline. On observe que la résistance à la lumière est très bonne (Grade I) pour tous les mordants utilisés ; on constate qu'il n'y a pas de décoloration après quatre semaines d'exposition au soleil.

CONCLUSION

Les résultats observés au cours de l'expérimentation permettent d'affirmer que la peau d'oignon peut être utilisée de façon avantageuse pour la teinture de la soie. Il est également possible d'obtenir différentes couleurs grâce aux divers mordants utilisés et un dégradé en changeant les concentrations d'extrait de peau d'oignon. Comme nous l'avons déjà précisé, une quantité importante de peau d'oignon est inutilisée et représente un matériel bon marché dans le domaine de la teinture. Les processus d'extraction du colorant sont simples et l'extrait et la teinture n'affectent pas la soie ; l'éclat et l'élégance de la fibre de soie sont préservés.

D'autres études dans ce sens peuvent être réalisées afin de connaître la constitution chimique du colorant ainsi que la rentabilité de la teinture de soie avec l'extrait de peau d'oignon.

COMPARATIVE EFFICACY OF SOME REARING TRAY DISINFECTANTS IN PREVENTION OF SILKWORM WHITE MUSCARDINE CAUSED BY *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUIL.

M. S. BYRAREDDY, M. C. DEVAIAH, T. K. NARAYANASWAMY, R. GOVINDAN &
M. B. SHYAMALA.

University of Agricultural Sciences, G. K. V. K. Bangalore 560 065, India.

*Artificial contamination of silkworm rearing bamboo trays with conidia of *Beauveria bassiana* followed by disinfection with formalin 1 and 1.5 %, bleaching powder 2 %, dithane M-45 1 and 2 %, lime and herb mixture resulted in the lowest cumulative larval and pupal mortality (11 to 17.5 %) compared to other disinfectants when such trays were used for rearing *Bombyx mori* L.*

Keywords : Silkworm, *Bombyx mori*, white muscardine, *Beauveria bassiana*, disinfectants.

The silkworm rearing trays are currently disinfected by exposing to sunlight as well as by treating with 2 to 4 % formalin before every rearing (Krishnaswami, 1978). With a view to finding out the efficacy of a few other materials having disinfecting action, they have been screened for preventing the silkworm white muscardine disease caused by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. The bamboo trays first sprayed uniformly with fungus (356×10^3 spores/ml) were treated with disinfectants after four days (Table I) and later employed for rearing NB₄D₂ bivoltine breed. The larval mortality was lowest in control 2 (8.0 %), and control 3 (7.5 %) as well as formalin 1.5 % (9.0 %). The pupal mortality was also least in controls 2 and 3 (1.65 to 2.13 %), formalin 1 to 1.5 % (2.19 to 5.68 %), bleaching powder 2.0 % (2.93 %), KMnO₄ 2 % (6.2 %), dithane M-45 1 to 2 % (2.3 to 4.04 %), lime (3.41 %), herb mixture (4.04 %) and sunlight (5.27 %) (Table I). In control 1, which was unprotected, there was no spinning. The cocoon weight and cocoon shell weight though were influenced by different disinfection treatments, the magnitude of difference was less.

Presently, 2 % formalin, as observed in contaminated and uncontaminated controls, was the most effective in reducing total mortality to 9 to 10 % compared to the control which involved contamination of trays with spores but undisinfected (97.0 %). This observation is in close agreement with previous observations (Anonymous, 1975) as per which 2 % formalin is good for routine disinfection. The larval mortality in the trays treated with lime was, however, much less than that found in contaminated but undisinfected trays, thus conforming the recommendation of Arbousset (1893) who suggested the use of lime as disinfectant for preventing silkworm diseases. Further, the contaminated trays that were exposed to sunlight or fumigated with 30 g/m² of herb mixture were almost on a par with the trays receiving 2 % KMnO₄ treatment. Similarly, Toumanoff (1933) observed that 3 hours of direct exposure of conidia destroyed the infectivity of *B. bassiana* and *B. globulifera*. Neem and gum benzoin were the least effective.

Table I. Effect of different disinfection treatments given to silkworm rearing trays on mortality and cocoon traits.

Tableau I. Mortalité et caractères du cocon en fonction de différents traitements désinfectants appliqués sur les claies d'élevages des vers à soie.

SI No. N° de série	Treatments Traitements	Larval mortality (%) Mortalité larvaire (%)	Pupal mortality (%) Mortalité nymphe (%)	Total mortality (%) Mortalité totale (%)	Single cocoon weight (g) Poids d'un cocon (g)	Cocoon shell weight (g) Poids d'une coque (g)
1	Formalin / Formol 1 %	13.0 (3.67)	5.68 (2.43)	18.0 (4.30)	1.825	0.346
2	Formalin / Formol 1.5 %	9.0 (3.08)	2.19 (1.55)	11.0 (3.38)	1.946	0.357
3	Bleaching powder / Chlorure de chaux 1 %	15.5 (3.99)	7.09 (2.73)	21.5 (4.68)	1.574	0.278
4	Bleaching powder / Chlorure de chaux 2 %	14.0 (3.79)	2.93 (1.83)	16.5 (4.10)	1.741	0.318
5	KMnO ₄ 1 %	20.5 (4.56)	6.39 (2.58)	25.5 (5.07)	1.711	0.323
6	KMnO ₄ 2 %	18.5 (4.33)	6.20 (2.48)	23.5 (4.87)	1.763	0.338
7	Dithane M-45 1 %	13.5 (3.74)	4.04 (2.08)	17.0 (4.17)	1.725	0.350
8	Dithane M-45 2 %	12.0 (3.53)	2.30 (1.57)	16.0 (4.05)	1.607	0.319
9	Lime / Chaux (1 part lime + 2 parts H ₂ O)	12.0 (3.53)	3.41 (1.95)	15.0 (3.93)	1.641	0.314
10	Gum benzoin / Benjoin (30 g/m ²)	19.5 (4.45)	8.02 (2.90)	26.0 (5.14)	1.714	0.296
11	Herb mixture / Mélange d'herbes (30 g/m ²)	14.0 (3.81)	4.04 (2.08)	17.5 (4.24)	1.881	0.341
12	Sunlight / Exposition au soleil (10 h)	15.0 (3.93)	5.27 (2.39)	19.5 (4.46)	1.852	0.355
13	Neem fruit paste / Pâte de margousier	20.0 (4.52)	8.71 (3.00)	27.0 (5.24)	1.597	0.311
14	Control 1 / Témoin 1	94.0 (9.72)	59.15 (9.91)	97.0 (9.87)	-	-
15	Control 2 / Témoin 2	8.0 (2.92)	2.13 (1.55)	10.0 (3.23)	1.737	0.350
16	Control 3 / Témoin 3	7.5 (2.82)	1.65 (1.32)	9.0 (3.03)	1.720	0.324
	CD at 5 %	0.58	1.25	0.48	0.197	0.049

Control 1 : Trays artificially contaminated with fungal spores and not disinfected / **Témoin 1 :** Claies contaminées artificiellement avec des spores fongiques et non désinfectées. **Control 2 :** Trays artificially contaminated with fungal spores and disinfected with 2 % formalin / **Témoin 2 :** Claies contaminées artificiellement avec des spores fongiques et désinfectées avec une solution de formol à 2 %. **Control 3 :** Trays not contaminated but disinfected with 2 % formalin / **Témoin 3 :** Claies non contaminées mais désinfectées avec une solution de formol à 2 %.

The values in parentheses are angular transformed figures / Les données entre parenthèses sont des transformées angulaires.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975), War on muscardine in Karnataka. Indian Silk, 14(8), 7-11.
- ARBOUSSET L. D. (1893), On silk and the silkworm practical treatise on sericulture. Moorlands Press, Leek, p. 285.
- KRISHNASWAMI S. (1978), New technology of silkworm rearing. Bull. No. 2, CSR & TI, Mysore, p. 23.
- TOUMANOFF C. (1933), Hétions des champignons entomophytes sur la pyrale du maïs (*Pyrausta nubilalis* Hubner). Ann. Parasitol. humaine et Compence, 11, 129-143.

COMPARAISON DE L'EFFICACITE PREVENTIVE DE CERTAINS DESINFECTANTS POUR LES CLAIES D'ELEVAGES CONTRE LA MUSCARDINE BLANCHE CAUSEE PAR *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUIL.

M.S. BIRAREDDY, M.C. DEVAIAH, T.K. NARAYANASWAMY, R. GOVINDAN & M.B. SHYAMALA

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560065, Inde.

La contamination artificielle des claies d'élevage de vers à soie en bambou par la conidie de Beauveria bassiana suivie par une désinfection avec 1 % et 1,5 % de formol, 2 % de chlorure de chaux, 1 et 2 % de dithane M-45, un mélange à base d'herbes et de chaux entraîne une mortalité larvaire et nymphale faible de Bombyx mori (11 et 17 %) par rapport à celle obtenue avec d'autres désinfectants.

Les claies d'élevage des vers à soie sont régulièrement désinfectées par des expositions au soleil et traitées avec 2 à 4 % de formol avant chaque élevage (Krishnaswami, 1978). Afin de vérifier l'efficacité de certains autres produits ayant un pouvoir désinfectant, ceux-ci ont été testés contre la muscardine blanche causée par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. Les claies de bambou vaporisées uniformément avec le champignon (356×10^7 spores/ml) sont traitées quatre jours après avec un désinfectant (Tableau I) puis utilisées pour l'élevage des souches bivoltines NB4D2. La mortalité larvaire est plus faible dans le lot témoin 2 (8,0 %) et le lot témoin 3 (7,6 %) ainsi que dans le lot traité avec 1,5 % de formol (9,0 %). La mortalité nymphale est également moindre dans les lots témoins 2 et 3 (1,65 à 2,13 %), ainsi que dans ceux traités avec 1 et 1,5 % de formol (2,19 à 5,68 %), 2,0 % de chlorure de chaux (2,93 %), 2 % de $KMnO_4$ (6,2 %), 1 à 2 % de dithane M-45 (2,3 à 4,04 %), de la chaux (3,41 %), un mélange d'herbe (4,04 %) et l'exposition au soleil (5,27 %) (Tableau I). Dans le lot témoin 1, qui n'était pas protégé, on constate une absence de filage. Les poids du cocon et de la coque subissent l'influence des différents traitements désinfectants mais les écarts sont faibles.

Le formol à 2 % est le plus efficace en réduisant la mortalité de 9 à 10 % alors que chez le témoin la mortalité est de 97,0 % (contamination des claies avec des spores mais non désinfectées). Cette observation est en accord avec les précédentes observations (Anonymous, 1975) qui mentionnaient que le formol à 2 % permet une bonne désinfection de routine. La mortalité larvaire dans les claies traitées avec de la chaux est bien plus faible que celle observée dans les claies contaminées mais non désinfectées et confirme les observations d'Arbousset (1893) qui préconisait l'emploi de la chaux comme désinfectant pour lutter contre les maladies des vers à soie. De plus, les claies contaminées et exposées au soleil ou fumigées avec 30 g/m² de préparation à base d'herbe donnent pratiquement le même résultat que les claies ayant été traitées avec 2 % de $KMnO_4$. Toumanoff (1933) a aussi observé que 3 heures d'exposition directe au soleil des conidies détruit l'infectiosité de *B. bassiana* et *B. globulifera*. Les traitements avec de la pâte de margousier et du benjoin sont les moins efficaces.

EFFECT OF MATING DURATION ON THE EGG LAYING AND THEIR HATCHABILITY IN THE ERI SILKMOTH, *PHILOSAMIA RICINI* HUTT. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S.D. MISRA & K. L. JOSHI*

Experimental Field Station, Zoology Department, University of Jodhpur, Jodhpur 342 001, India.

Female and male moths were collected immediately after emergence from seed cocoons and kept separately in baskets. In the study of varying durations of mating 0-24 hours, it was found that allowing the moths to mate 3-5 hours is sufficient for stimulating to lay adequate numbers of hatchable eggs.

Keywords : Hatchability, egg laying, kharika and chandrakies.

INTRODUCTION

Mating and producing hatchable eggs are two different, although connected events. Roth and Willis (1956) in *Blatta orientalis* reported that mating stimulates egg laying and showed that mated females, on an average, laid 160 eggs, while unmated lay only 114. Similar results were reported in *Haematosiphon inodorus* (Lee, 1954), *Hesperocimex sonarensis* (Ryckman, 1958) and *Cimex lectularis* (Davis, 1964, 1965a, 1965b). The present work was therefore undertaken to analyse the effect of mating duration (0-24 hours) on the number of eggs laid and their hatchability so that the duration could be regulated in seed-cutting regimen of the moth in Ericulture management.

MATERIAL AND METHODS

Healthy seed cocoons of the Eri silkmoth, *Philosamia ricini*, were collected (approximately of equal weights) from chandrakies (bamboo-made, being used for spinning the cocoons) and kept in basket for emergence of the moths. The cocoons (male in one and female in another basket) were kept separately. From the emergence of the first two days, fifty females and fifty males were collected in two separate baskets. The males were released in the basket of the females to permit them to form pairs. After fifteen minutes the coupled moths were collected and put in another basket, while those which delayed forming couples till after this time limit set, were ignored.

The couples were separated, one at a time, at hourly successive intervals and the separated females were put on the kharika (a bunch of straw, being used for egg laying) for egg laying. The seed-cutting room had a relative humidity of 45-50 % and temperature of 20-22 °C.

The eggs from these moths were collected daily after 72 hours of decoupling them and were incubated in the room having a relative humidity 60-70 % and temperature 22-24 °C. The whole experiment was replicated three times and average was obtained from the data recorded.

* Present address : Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Srirampuram, Mysore 570 008, Karnataka.

RESULTS AND DISCUSSION

The data (Fig. 1) show that the number of eggs laid (21-60) and their hatchability (0-18 %) were very low in the case of the females which were allowed to mate from 0-2 hours, while in the case of the mating durations of 3-5 hours, the number of eggs produced was 150-350 and their hatchability ranged from 76-93 %. In the majority of short-lived lepidoptera, notably noctuid moths, mating stimulates only egg laying. This is evident from examples of *Cynthia*, *Cecropia*, *Lunas* and *Promethia* silkmooths (Rau and Rau, 1914), *Bombyx mori* (Mokia, 1941), *Periplaneta americana* (Griffiths and Tauber, 1942) and confirmed by Pope (1953) and Roth and Willis (1956). In these examples the virgins retain most of their eggs until shortly before their death. According to Pope (1953) and Roth and Willis (1956) mated *P. americana* laid approximately 940 eggs while unmated ones laid only 490. In our experiment, mating longer than four hours did not appreciably increase the number of eggs laid – the small increase was indeed erratic. Increasing the hours of mating longer than four hours may be a stimulant of doubtful utility, so far as the increased number of eggs laid are concerned, but is useful in another way – in making the pattern of the egg mass more compact.

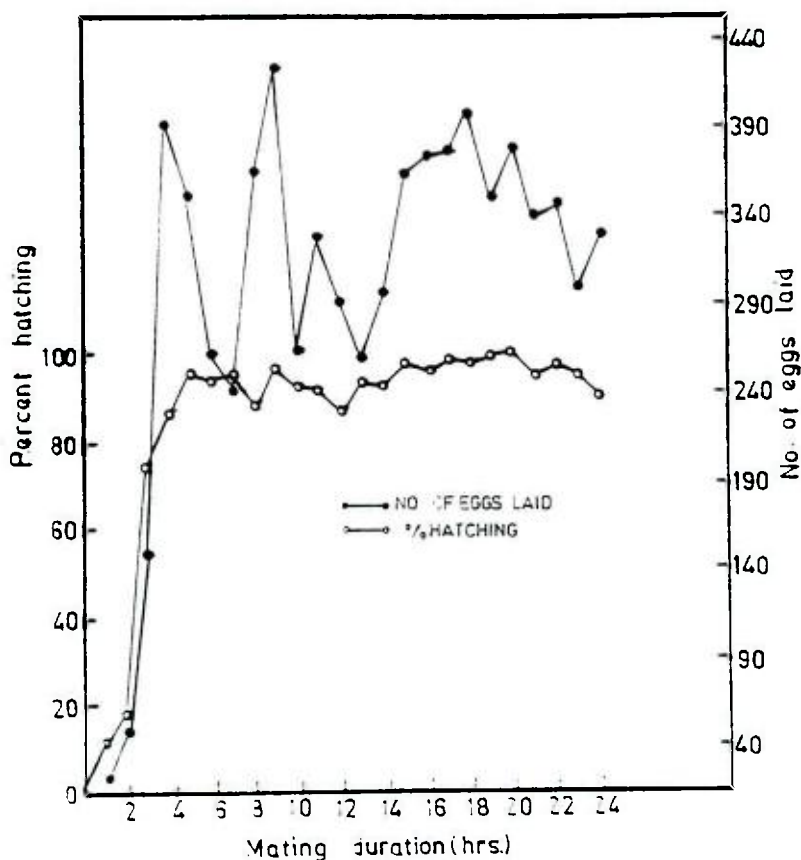


Fig. 1 : Number of eggs laid and their hatchability in relation to mating duration of the Eri silkmooth, *Philosamia ricini*.

Fig. 1 : Nombre d'oeufs pondus et éclosabilité en fonction de la durée d'accouplement chez le papillon *Eri Philosamia ricini*.

It was noted that the females mated 0-2 hours laid the eggs all around the kharika, within the reach of their tether. Those which had longer mating, however, arranged their eggs in an orderly fashion, making the egg mass a compact and cup-like structure. This phenomenon has been observed by other authors in widely different insect orders. Schedl (1936) observed that the virgin of *Prothetria dispar* scattered her eggs irregularly and did not cover them with glandular secretion and scales as her mated sister would do. Likewise, Ibrahim (1955) observed the same behaviour in the virgins of *Coccinella undecimpunctata aegyptica*.

REFERENCES

- DAVIS N.T. (1964), Studies on reproductive physiology of cimicidae (Hemiptera). I. Fecundation and egg maturation. J. Insect. Physiol., 10, 947-963.
- DAVIS N.T. (1965 a), studies on reproductive physiology of cimicidae (Hemiptera). II. Artificial insemination and the function of the seminal fluid. J. Insect. Physiol., 11, 355-360.
- DAVIS N.T. (1965 b), Studies on reproductive physiology of cimicidae (Hemiptera). III. The seminal stimulus. J. Insect. Physiol., 11, 1199-1211.
- GRIFFITHS J. T., TAUBER O. E. (1942), Fecundity, longevity and parthenogenesis of the American roach, *Periplaneta americana*. Physiol. Zool., 15, 916.
- IBRAHIM M. M. (1955), Studies on *Coccinella undecimpunctata aegyptica*. Biology and life history (Coleoptera : Coccinellidae). Bull. Soc. Entomol., Egypt, 39, 395-423.
- LEE R. D. (1954), Oviposition by poultry bug. J. Econ. Entomol., 47, 224-226.
- MOKIA G. G. (1941), Contribution to the study of hormones in insects. C. R. Acad. Sci., Paris, 253, 907-909.
- POPE P. (1953), Studies on the life histories of some Queensland Blattidae (Orthoptera). Proc. Roy. Soc., Queensland, 63, 23-59.
- RAUP, RAUN. (1914), Longevity in saturnid moths and its relation to the function of reproduction. Trans. Acad. Sci. Am., 49, 195-204.
- ROTH L. M., WILLIS E. R. (1956), Parthenogenesis in cockroaches. Ann. Entomol. Soc. Am., 49, 195-205.
- RYCKMAN R.E. (1958), Description and biology of *Hesperocimex sonarensis* (Hemiptera : cimicidae) Ann. Entomol. Soc. Am., 51, 33-47.
- SCHEDL K. E. (1936), Der Schwammspinner (*Prothetria dispar*) in Eurasien, Africa and Neuengland.

EFFET DE LA DUREE DE L'ACCOUPLEMENT SUR LA PONTE DES OEUFs ET LEUR ECLOSION CHEZ LE VER A SOIE ERI *PHILOSAMIA RICINI* HUTT. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S.D. MISRA & K.L. JOSHI*

Experimental Field Station, Zoology Department, University of Jodhpur, Jodhpur 342 001, Inde.

Des papillons mâles et femelles ont été prélevés dès l'émergence sur des cocons destinés à la production de graines et conservés séparément dans des paniers. L'étude des différentes durées d'accouplement (de 0 à 24 heures) montre qu'une période d'accouplement de 3 à 5 heures est suffisante pour stimuler la ponte et obtenir un nombre suffisant d'oeufs fécondés.

INTRODUCTION

L'accouplement et la production d'oeufs fécondés sont deux phénomènes différents bien que liés. Roth et Willis (1956) ont observé, chez *Blatta orientalis*, que l'accouplement stimule la ponte des oeufs et que les femelles accouplées pondent en moyenne 160 oeufs, tandis que les femelles non accouplées n'en pondent que 114. Des résultats similaires ont été obtenus chez *Haematosiphon inodorus* (Lee, 1954), *Hesperocimex sonarensis* (Ryckman, 1958) et *Cimex lectularis* (Davis, 1964, 1965a, 1965b). La présente étude a donc été entreprise afin d'analyser l'effet de la durée de l'accouplement (de 0 à 24 heures) sur le nombre d'oeufs pondus et leur éclosabilité pour organiser le système de ponte du papillon dans l'élevage du ver à soie Eri.

MATERIEL ET METHODES

Des cocons d'un poids à peu près égal de souches saines du ver à soie Eri *Philosamia ricini* sont prélevés sur des chandrakies (cncabanages en bambou) et conservés dans des paniers jusqu'à l'émergence des papillons. Les cocons mâles et femelles sont conservés dans des paniers séparés. Deux jours après l'émergence, cinquante mâles et cinquante femelles sont prélevés et déposés dans des paniers séparés. Les mâles sont placés dans le panier des femelles pour permettre l'accouplement. Après 15 minutes, les papillons accouplés sont prélevés et placés dans un autre panier, tandis que ceux qui ne se sont pas accouplés après ce délai sont laissés de côté.

Les couples sont séparés un à un, à intervalle d'une heure et les femelles sont placées sur une kharika (montage en paille utilisé pour la ponte). L'humidité relative de la pièce de ponte est de 45,50 % et la température de 20-22 °C.

Les oeufs de ces papillons sont prélevés tous les jours à partir de 72 heures après le désaccouplement et sont incubés dans une pièce dont l'humidité relative est 60-70 % et la température de 22-24 °C. Toutes les phases de l'expérience sont répétées quatre fois et les moyennes sont calculées à partir des données enregistrées.

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Srirampuram, Mysore 570 008, Karnataka, Inde.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données (Fig. 1) montrent que le nombre d'oeufs pondus (21-60) et leur taux d'éclosion (0-18 %) sont très faibles lorsque la durée d'accouplement est comprise entre 0 et 2 heures, alors que lorsque la durée d'accouplement est de 3 à 5 heures, le nombre d'oeufs produits est de 150 à 350 et leur taux d'éclosion varie de 76 à 93 %. Chez la majorité des lépidoptères à vie courte, en particulier les papillons nocturnes, l'accouplement stimule seulement la ponte des oeufs. Ceci apparaît clairement chez les vers à soie *Cynthia*, *Cecropia*, *Lunas* et *Promethia* (Rau et Rau, 1914), *Bombyx mori* (Mokia, 1941), *Periplaneta americana* (Griffiths et Tauber, 1942) et est confirmé par Pope (1953) et Roth et Willis (1956). Dans ces exemples, les femelles non accouplées conservent la plupart de leurs oeufs jusqu'à peu avant leur mort. D'après Pope (1953) et Roth et Willis (1956), chez *P. americana*, la femelle accouplée pond environ 940 oeufs tandis que la femelle non accouplée n'en pond que 490. Dans notre expérience, l'accouplement prolongé au-delà de 4 heures n'augmente pas de manière significative le nombre d'oeufs pondus, cette faible augmentation est en effet erratique. Augmenter la période d'accouplement plus de quatre heures ne semble pas être un stimulant nécessaire en ce qui concerne le nombre d'oeufs pondus mais peut permettre de rendre la masse des oeufs pondus plus compacte.

On a observé que les femelles accouplées entre 0 et 2 heures pondent leurs oeufs de manière dispersée sur tous les endroits de la kharika à leur portée. Celles qui sont accouplées plus longtemps arrangent leurs oeufs de façon ordonnée en une structure compacte en forme de coupe. Ce phénomène a été observé par d'autres auteurs chez des familles d'insectes tout à fait différentes. Schedl (1936) a observé que la femelle non accouplée de *Prothetria dispar* éparpille ses oeufs et ne les recouvre pas avec une sécrétion glandulaire et des écailles comme le fait la femelle accouplée. Ibrahim (1955) a également remarqué le même comportement chez les femelles non accouplées de *Coccinella undecimpunctata aegyptica*.

SYNAPTONEMAL COMPLEX KARYOTYPE OF AN INDIAN SILKWORM, *ANTHRAEA ROYLEI*

S. C. KUNDU, N. IBOTOMBI & Th. BHAGIRATH

Department of Life Sciences, Manipur University, Canchipur, Imphal - 795003, India.

The pachytene synaptonemal complex (SC) karyotype of the wild silkworm, Anthraea roylei, was studied under a light microscope using the surface spreading technique. Thirty-one SCs were observed in all the analysable pachytene nuclei. The gradual decrease in length from chromosome no. 1 to chromosome no. 31, the absence of any recognisable centromere and other chromosome markers makes a precise characterisation of the 31 SCs impossible. In many pachytene cells chromosome no. 6 was often associated with a nucleolar organiser region (NOR). The Z and W chromosomes could not be distinguished from the autosomes as they have exactly the same length forming a complete SC from telomere to telomere and do not possess any distinguishing character.

Keywords : Synaptonemal complex, *Anthraea roylei*.

INTRODUCTION

The hybrid between *Anthraea pernyi* ($n = 49$) and *A. roylei* ($n = 30$) known as *A. proylei* (Jolly *et al.*, 1969) has reached the ultimate karyotype having haploid chromosome number 49 (Bhagirath *et al.*, 1988). We have crossed this hybrid with *A. roylei*. Metaphase I analysis revealed chromosome polymorphism and chromosome number variation between $n = 30$ and $n = 32$ among geographical races of *A. roylei* (Jolly, 1985). The SC karyotype of *A. roylei* used in our cross was studied as a prelude to chromosome pairing analysis in our cross progenies and the results are reported in this paper.

MATERIALS AND METHODS

A. roylei females collected from the wild from Manipur were used in the present study. SCs from oocytes of 3-5 instar female larvae were prepared following the method of Bhagirath *et al.* (1988).

The absolute length of each SC was measured by reproducing the length of each SC with a fine wire from a photograph and comparing it with micrometer scale magnified similar to the photograph. The mean relative lengths of individual SCs are given according to Moses (1977) as percentage of the total SC complement length.

RESULTS AND DISCUSSION

In all the pachytene nuclei examined 31 SCs were present in each nucleus, indicating the haploid chromosome number of this species to be 31. The SCs passed unaltered from one end to the other end of the bivalents adopting various configurations from an almost straight line to a loop. The telomeric ends of the SCs are modified into large dense stained attachment plates. The Z and W chromosomes could not be identified as they have the same length, are completely paired and do not possess any distinguishing feature.

Table I. Mean absolute lengths and relative lengths of female *A. roylei* SCs calculated from five pachytene nuclei.

Tableau I. Longueurs absolues et relatives moyennes des complexes synaptonémaux des femelles d'A. roylei calculées à partir de cinq noyaux au stade pachytène.

Chromosome <i>Chromosome</i>	Absolute length (μm) <i>Longueur absolue (μm)</i>	Relative length (%) <i>Longueur relative (%)</i>	Standard deviation <i>Ecart-type</i>
1	11.12	4.30	0.14
2	10.64	4.05	0.07
3	10.64	3.92	0.04
4	10.60	3.85	0.04
5	10.33	3.79	0.02
6	10.05	3.75	0.05
7	10.03	3.72	0.03
8	9.80	3.63	0.01
9	9.78	3.57	0.05
10	9.75	3.52	0.09
11	9.74	3.43	0.06
12	9.69	3.42	0.06
13	9.60	3.36	0.00
14	9.47	3.34	0.02
15	9.34	3.31	0.01
16	9.28	3.28	0.02
17	9.08	3.23	0.04
18	9.05	3.22	0.04
19	8.89	3.18	0.03
20	8.56	3.11	0.06
21	8.49	3.04	0.07
22	7.98	2.98	0.08
23	7.76	2.93	0.04
24	7.73	2.87	0.04
25	7.57	2.79	0.04
26	7.57	2.73	0.06
27	7.41	2.59	0.06
28	6.31	2.45	0.06
29	6.17	2.31	0.03
30	5.86	2.19	0.12
31	5.21	2.08	0.09

Table I shows the absolute and relative lengths with the standard deviations of the 31 SCs at pachytene. The absolute lengths vary between 11.12 μm to 5.21 μm . The relative lengths vary between 4.30 % to 2.08 %. There is little variation in length among the SCs within a particular nucleus as indicated by small standard deviations. The holocentric nature, absence of identifying markers and negligibly small variation in length among the medium size SCs do not permit the identification of individual SCs. So far the SC karyotypes of four species of silkworms have been studied. They include

Bombyx mori (Bhagirath *et al.*, 1987; Rasmussen, 1986), *Antheraea proylei* (Bhagirath *et al.*, 1988a), *Philosamia ricini* (Bhagirath *et al.*, 1988b) and *P. cynthia* (Ibotombi *et al.*, 1988). The SC morphology of these species, viz. holocentric nature, modification of telomeres into attachment plates and complete SC formation between the sex chromosomes are similar to those of *A. roylei* observed in this study. A descriptive account of the SC karyotype of *A. roylei* will give better insight into the mechanism of chromosome pairing between *A. proylei*, $n = 49$, and *A. roylei*, $n = 31$ (in preparation).

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported financially by the University Grants Commission, New Delhi.

REFERENCES

- BHAGIRATH Th., KUNDU S. C., SINGH L. J. (1987), Synaptonemal complexes and associated structures in silkworm (*Bombyx mori*) oocytes. *The Nucleus*, 30(3), 104-111.
- BHAGIRATH Th., KUNDU S. C., IBOTOMBI N. (1988a), Ultimate karyotype of the hybrid between *Antheraea pernyi* and *A. roylei*. *Sericologia*, 28(1), 91-94.
- BHAGIRATH Th., KUNDU S. C., IBOTOMBI N. (1988b), Pachytene synaptonemal complex analysis in an Indian eri silkworm, *Philosamia ricini*. *Sericologia*, 28(1), 99-104.
- IBOTOMBI N., BHAGIRATH Th., KUNDU S. C. (1988), Pachytene synaptonemal complex analysis in Indian silkworm II *Philosamia cynthia*. *Sericologia*, 28(2), 195-198.
- JOLLY M. S. (1985), Species differentiation in the genus *Antheraea*. *Sericologia*, 25, 95-110.
- MOSES M. J. (1977), The synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the chinese hamster (*Cricetulus griseus*). *Chromosoma*, 60, 99-125.
- RASMUSSEN S. W. (1986), Initiation of synapsis and interlocking of chromosomes during zygotene in *Bombyx* spermatocytes. *Carlsberg Res. Commun.*, 51, 401-432.

CARYOTYPE DES COMPLEXES SYNAPTONEMAUX DU VER A SOIE INDIEN *ANTHRAEA ROYLEI*

S.C. KUNDU, N. IBOTOMBI & Th. BHAGIRATH

Department of Life Sciences, Manipur University, Canchipur, Imphal - 795003, Inde.

*Le caryotype du complexe synaptonémal pachytène du ver à soie sauvage *Antheraea roylei* a été étudié au microscope optique en utilisant la technique d'étalement. Trente-et-un complexes synaptonémaux ont été observés dans tous les noyaux pachytènes analysables. La faible et graduelle variation de longueur du chromosome 1 au chromosome 31, l'absence de centromères reconnaissables et d'autres marqueurs chromosomiques rendent impossible la caractérisation des 31 complexes synaptonémaux. Dans bien des cellules pachytènes, le chromosome 6 est souvent associé avec une région d'organisateur nucléolaire (NOR). Les chromosomes Z et W ne peuvent être distingués des autosomes car ils ont exactement la même longueur formant un complexe synaptonémal complet de télomère à télomère et ne possèdent pas de caractère distinctif.*

INTRODUCTION

L'hybride entre *Antheraea pernyi* ($n = 49$) et *A. roylei* ($n = 30$), plus connu sous le nom de *A. proylei* (Jolly et coll., 1969) contient, au stade ultime, un stock haploïde de 49 chromosomes (Bhagirath et coll., 1988). Nous avons croisé cet hybride avec *A. roylei*. L'analyse en métaphase I montre un polymorphisme chromosomique et une variation du nombre des chromosomes entre $n = 30$ et $n = 32$ selon les races géographiques de *A. roylei* (Jolly, 1985). Le caryotype du complexe synaptonémal de *A. roylei* utilisé dans nos croisements a fait l'objet d'une étude préliminaire pour l'analyse de l'appariement des chromosomes dans la progéniture de notre croisement.

MATERIELS ET METHODES

Des femelles sauvages *A. roylei* de Manipur ont été utilisées pour cette étude. Les complexes synaptonémaux des ovocytes des larves du 3-5ème âge ont été préparées en suivant la méthode de Bhagirath et coll. (1988).

La longueur absolue de chaque complexe synaptonémal a été mesurée en reproduisant la longueur de chacun avec un fil métallique fin à partir d'une photographie et en la comparant avec une échelle micrométrique amplifiée de manière identique à la photographie. Les longueurs relatives moyennes individuelles des complexes synaptonémaux sont données selon Moses (1977) en pourcentage de la longueur complémentaire des complexes synaptonémaux totaux.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans tous les noyaux pachytènes examinés, on constate l'existence de 31 complexes synaptonémaux indiquant que le nombre de chromosomes haploïdes de cette espèce est de 31. Les complexes synaptonémaux restent inchangés d'un bout à l'autre des bivalents adoptant différentes configurations allant de la simple ligne droite à la boucle. Les extrémités télomériques des complexes synaptonémaux sont transformées en grandes plaques d'attachement de coloration dense. On ne peut

identifier les chromosomes Z et W car ils ont la même longueur, ils sont totalement appariés et ils ne possèdent aucune caractéristique particulière.

Le tableau I montre les longueurs relatives et absolues et les écarts-type des 31 complexes synaptonémaux au stade pachytène. Les longueurs absolues varient entre 11.12 μm et 5.21 μm . Les longueurs relatives varient entre 4.30 % et 2.08 %. La variation à l'intérieur d'un noyau particulier est minime, comme l'indiquent les faibles écarts types. La nature holocentrique, l'absence de marqueurs d'identification et la faible différence de longueur entre les complexes synaptonémaux de taille moyenne empêchent l'identification individuelle des complexes synaptonémaux. Les caryotypes des complexes synaptonémaux de quatre espèces de vers à soie ont été étudiés, à savoir : *Bombyx mori* (Bhagirath et coll., 1987 ; Rasmussen, 1986), *Antheraea proylei* (Bhagirath et coll., 1988a), *Philosamia ricini* (Bhagirath et coll., 1988b) et *P. cynthia* (Ibotombi et coll., 1988). La morphologie des complexes synaptonémaux de ces espèces, c'est-à-dire la nature holocentrique et la modification des télomères en plaques d'attachement et la formation complète des complexes synaptonémaux entre les chromosomes sexuels, est semblable à celle que nous avons observée chez *A. roylei*. La description détaillée du caryotype du complexe synaptonémal de *A. roylei* permettra de mieux comprendre le mécanisme de l'appariement des chromosomes entre *A. proylei* $n = 49$ et *A. roylei* $n = 31$ (en préparation).

STUDIES ON THE BIONOMICS OF THE VAPOURER TUSSOCK MOTH, *NOTOLOPHUS ANTIQUA* LINN. (LEPIDOPTERA : LYMANTRIADAE)

R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, N. KUMAR & S.S. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834005, India.

The vapourer tussock moth, Notolophus antiqua Linn., is a sporadic and specific pest of primary tasar food plants, viz. Terminalia arjuna (Bedd.) and Terminalia tomentosa (W. and A.). The female is with reduced wings and lives solely for the purpose of oviposition. Each female lays about 500 eggs. There are 5 larval instars and six broods in a year. The total larval duration lasts 21-40 days. The pupal period occupies 8 days. The hairy caterpillar defoliates the primary tasar food plant.

Keywords : *Notolophus antiqua*, oviposition, caterpillar.

INTRODUCTION

The vapourer tussock moth, *Notolophus antiqua* Linn., is a sporadic pest of primary tasar plants, viz. *Terminalia arjuna* (Bedd.) and *Terminalia tomentosa* (W. and A.). It frequently occurs in such numbers that it seriously injures the foliage of the plant. Sometimes the damage is so serious that the plant may be completely defoliated by its caterpillars. During severe infestation the seedlings and young plants are completely consumed and the growth of the plant is checked. In spite of the serious nature of this pest, little work has been done so far on the biology, seasonal history of this pest. Comstock (1924), Ross (1956) and Richards and Davis (1960) gave a brief description of its life history. Keeping in view the seriousness of this pest, an attempt has been made to study the biology of this pest.

MATERIALS AND METHODS

The caterpillars were collected from the field of primary tasar food plants and reared in laboratory, to keep up the continuity of the generation. The newly hatched caterpillars were fed on the leaves of the primary tasar food plants, *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa*. The food was changed daily (twice a day) depending upon the rate of feeding. The daily observation on the progress of each individual under rearing was made. The presence of exuviae indicated instar change. The adults thus collected were sorted out into males and females. The females inside the cocoon itself were kept in a glass jar and provided with leaves of primary tasar food plants for oviposition. The eggs were kept in plastic jars (10.6 × 7.4 cm) for studying the incubation period and viability and the newly hatched caterpillars were released on fresh green leaves in the jar. The observations on the seasonal history of the caterpillars were recorded regularly by visiting the field of the host plants, *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa*.

RESULTS AND DISCUSSION

The moth emerged from the cocoon by making a round hole. The new emerged moth is active and moves about waving its antennae. The moth is white to brownish in colour. The forewings are crossed by two deeper brown bands and have a conspicuous white spot near the anal angle. The hindwing is comparatively paler than the forewing bending to darker near the edges. The colour of the abdomen is similar to that of the forewing. The length of the male varies from 13 to 18 mm and its width from 6 to 9 mm. The colour of the body is white, clothed with yellowish white hairs and resembles a grub more than a moth. The female lives in the cocoon made during the prepupal period.

The female emerged from her cocoon and after pairing lays her eggs in masses upon the surface of the cocoon which remains attached with the leaves of the primary tasar food plants. During the oviposition period, some hairy scales are attached with the eggs and mingle with a viscid secretion which she deposits with her eggs and which, on drying, becomes hard and brittle. Each female lays 311 to 553 eggs. It takes 30 to 45 minutes to complete the oviposition. After oviposition, the female dies.

Comstock (1924) reported that female *Notolophus antiqua* deposited her eggs on her cocoons but unlike *Notolophus leucostigma*, *Notolophus definita* and *Hemerocampa leucostigma* does not cover them with anything. In the present observation the results indicate that some scales are mixed with the egg mass but not covered with a frothy mass, which supports the findings of Comstock.

The eggs are small and dorsoventrally flattened. The freshly laid eggs are white in colour. The incubation period varies from 5 to 7 days, but sometimes may extend up to 8 days. During this period the mean minimum and maximum temperatures range between 25 °C and 28 °C with a relative humidity ranging from 54 to 73 per cent. The occurrence of rains also coincided with the period (Fig 1).

The freshly emerged larva possesses a prominent light red head and brownish black body colour with two yellow stripes on each side. All body segment bears small setae. The young larva on hatching has the power of spinning a thin silk thread, with which it lowers itself from the resting place when disturbed and by means of which it regains the place from which it has dropped. This power is lost as the insect develops from the successive moults. The young larva starts moving in search of food. It prefers the tender leaves of the primary tasar food plants. They first penetrate their head under the surface of leaves and start feeding just below the epidermal layer more or less like a leaf miner. There are five larval instars. The larval period varies from 20 to 40 days (Fig 1). The matured caterpillar is striking and hides during scorching sun beneath the leaf. The head is brilliant vermilion in colour. The body is yellow-banded with white and adorned with black tipped tufts and bundles of black-coloured hairs.

The variation in the larval period has been reported by several workers (Collenette, 1931 ; Cameron, 1970). Wickman (1976) reported the larval development in *Hemerocampa pseudosugata*. It varies greatly in different species and, in some instances, even within the limits of a single species. Soule (1895) recorded a similar number in other lepidoptera. In a few cases, sexual differences have been recorded, the female larvae undergoing one more moulting than the male, as *Orgyia antiqua*. Chapman (1887) observed that in *Orgyia antiqua* larvae which moult three times produce male, those which moult four times give rise to imagines of both sexes. In *Notolophus antiqua* four moults have been recorded for both the sexes.

The caterpillars pupated in cocoons on the leaves of *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa*. During the prepupal period, the caterpillars contracted in size and changed their colour to yellowish creamy. The pupal period ranged from 9 to 12 days in the gyps moth. Grant (1981) reported that the pupal stage varied from 10 to 12 days in the white-marked tussock moth. Thus the present findings fit in the variation reported by earlier workers. Moth emergence took place in the early hours of the morning. The large variations in the incubation, larval and pupal periods obtained in the present investigation could be attributed to low temperature and high relative humidity during November-December and high temperature and low relative humidity during March-April (Fig 2).

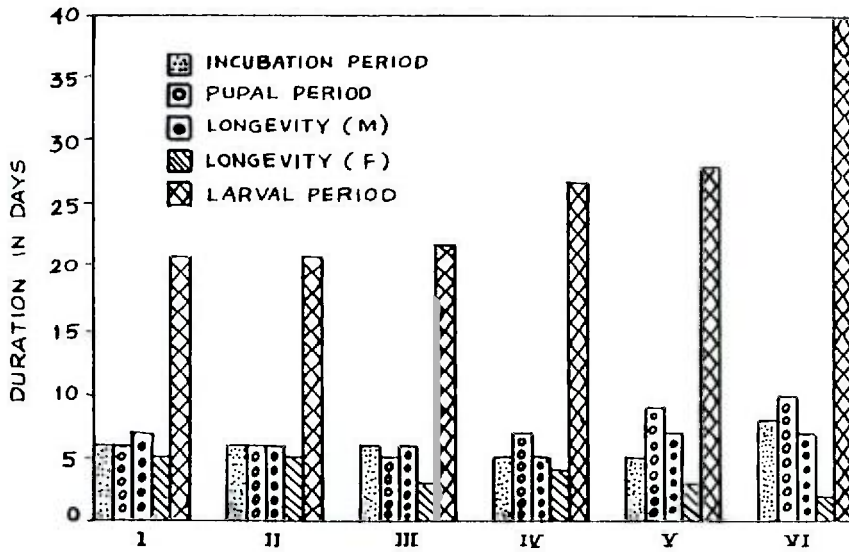


Fig. 1 : Duration of various stages of the life history of *Notolophus antiqua*.

Fig. 1 : Durée des diverses phases de la vie de *Notolophus antiqua*.

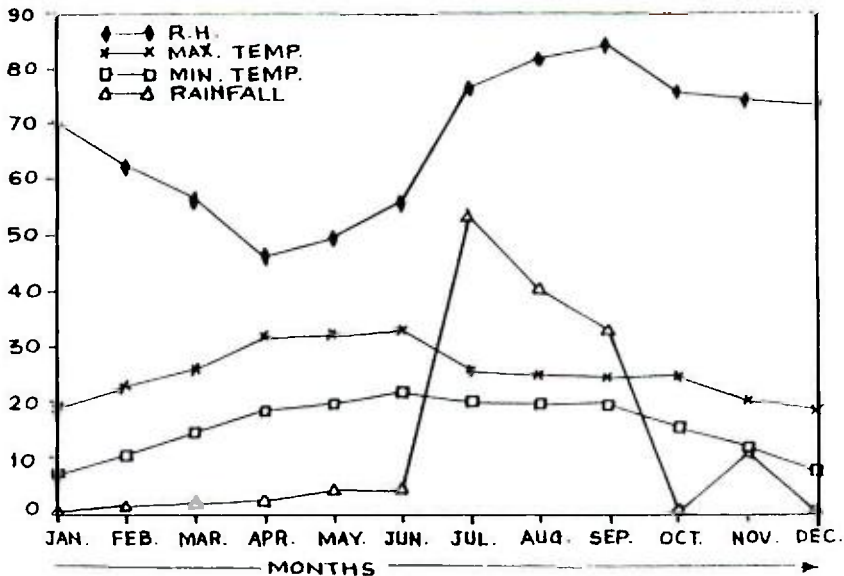


Fig. 2 : Monthly variations in the abiotic factors of F.L., Nagri (1987).

Fig. 2 : Variations mensuelles des facteurs abiotiques de F.L., Nagri (1987).

REFERENCES

- CHAPMAN T.A. (1887), On the moulting of the larva of *Orgyia antiqua*. Entomologist's Mon. Mag., 23, 224-227.
- COMSTOCK J.H. (1924), An introduction to entomology. Ithca. N.Y., The Comstock Publishing Co., Ithca.
- COLLENETTE C.L. (1933), New African Lymantriidae in the British museum collection. Trans. R. Ent. Soc. London, 79, 341-363.
- CAMERON E.A. (1970), Larval eclosion in the Douglas fir tussock moth, *Hemorocampa pseudosugata*. Ann. Entomol. Soc. Am., 63, 1110-1113.
- GRANT C.G. (1981), Mating behaviour of the white marked tussock moth and role of female scales in releasing male copulatory attempts. Ann. Entomol. Soc. Am., 74(1), 100-105.
- RICHARDS O.W. and DAVIES R.C. (1960), Imms general textbook of entomology. Revised 9th addition Chapman and Hall Ltd., London, 567.
- ROSS H.H. (1956), A textbook of entomology. Jone Willey and sons, N.Y., 2nd edition, 50-202.
- SOULE C.C. (1895), Uncertainty of duration of any stage in life history of moth. Psyche, Cambridge, 7, 191.
- WICKMAN B.E. (1976), Phenology of white fir and Douglas fir tussock moth egg and larval development in California. Environmental Entomol., 5, 316-322.

ETUDES SUR LA BIONOMIE DE L'ORGYIE *NOTOLOPHUS ANTIQUA* LINN. (LEPIDOPTERA : LYMANTRIIDAE)

R.N. SINGH, S.R. BHENGRA, N. KUMAR & S.S. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, Hehal, Ranchi - 834005, Inde.

L'orgye Notolophus antiqua Linn. est un parasite sporadique et spécifique de *Terminalia arjuna* (Bedd.) et *Terminalia tomentosa* (W. et A.), plantes-hôtes primaires du ver à soie tasar. La femelle possède des ailes réduites et vit seulement jusqu'à la ponte. Chaque femelle pond environ 500 oeufs. Cet insecte a cinq âges larvaires et six générations par an. La période larvaire totale dure de 21 à 40 jours. La période pupale dure huit jours. La chenille, recouverte de poils, défeuille les plantes-hôtes primaires du tasar.

INTRODUCTION

L'orgy *Notolophus antiqua* Linn. est un parasite sporadique de *Terminalia arjuna* (Bedd.) et *Terminalia tomentosa* (W. et A.), plantes primaires du tasar. On le trouve généralement en quantités telles qu'il endommage sérieusement le feuillage de la plante. Parfois, l'importance du dommage fait que la plante se trouve complètement défeuillée par l'action des chenilles. Au cours des infestations les plus importantes, les sauvageons et les jeunes plants sont entièrement consommés et la croissance de la plante est interrompue. Malgré la gravité de ce parasitisme, peu de recherches ont été faites jusqu'à présent sur la biologie et sur le cycle saisonnier de ce parasite. Comstock (1924), Ross (1956) et Richards et Davis (1960) ont fait un bref descriptif de son cycle vital. Etant donné la gravité de cette infestation, on a entrepris l'étude de la biologie de ce parasite.

MATERIELS ET METHODES

Les chenilles ont été prélevées dans leur environnement naturel sur les plantes nourricières primaires du tasar et élevées en laboratoire afin d'assurer la continuité des générations. Les chenilles à l'éclosion sont nourries sur des feuilles des plantes nourricières primaires du tasar *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa*. La nourriture est changée une ou deux fois par jour suivant la nécessité. On observe quotidiennement l'évolution de chaque individu élevé. La présence d'exuvies indique le changement de stade. Les adultes sont triés par sexe. Les femelles sont prélevées à l'intérieur du cocon et déposées dans un bocal en verre et nourries de feuilles de plantes nourricières tasar jusqu'à l'oviposition. Les oeufs sont conservés dans des récipients en plastique (10,6 x 7,4 cm) pour étudier la période d'incubation et la viabilité ; les chenilles en sortie d'éclosion sont déposées sur des feuilles fraîches dans le bocal. Les données sur le cycle saisonnier des chenilles sont notées régulièrement en observant les plantations de *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le papillon émerge du cocon en y perçant un trou circulaire. Le papillon est actif dès l'émergence et se déplace en agitant ses antennes. Il est de couleur blanche tirant vers le marron. Les ailes antérieures sont rayées de deux bandes marron foncé et ont un point blanc apparent près de l'angle anal. L'aile postérieure est comparativement plus pâle que l'aile antérieure, tirant vers le foncé aux

extrémités. La couleur de l'abdomen est similaire à celle de l'aile antérieure. La longueur du mâle varie de 13 à 18 mm et sa largeur de 6 à 9 mm. Le corps est de couleur blanche, recouvert de poils blanc-jaunâtre et ressemble à celui d'une larve plus qu'à celui d'un papillon. La femelle vit dans le cocon fait pendant la période prénymphe.

La femelle émerge de son cocon et, après l'accouplement, pond ses oeufs en masse sur la surface du cocon qui reste attaché aux feuilles des plantes nourricières. Pendant la période de ponte, quelques écailles couvertes de poils sont attachées aux oeufs et se mélangent avec une sécrétion visqueuse que la femelle dépose avec ses oeufs et qui, en séchant, devient dure et friable. Chaque femelle pond entre 311 et 553 oeufs. Il lui faut entre 30 et 45 minutes pour terminer l'oviposition. Après l'oviposition, la femelle meurt.

Comstock (1924) a observé que, chez *Notolophus antiqua*, la femelle dépose ses oeufs sur ses cocons mais, contrairement à *Notolophus leucostigma*, *Notolophus definita* et *Hemerocampa leucostigma*, elle ne les recouvre pas. La présente étude indique que des écailles sont mélangées à la masse des oeufs mais ne sont pas recouvertes par une substance spumescence, ce qui corrobore les résultats de Comstock.

Les oeufs sont de petite taille et aplatis dans le plan dorso-ventral. Les oeufs nouvellement pondus sont de couleur blanche. La période d'incubation varie de 5 à 7 jours, mais peut parfois atteindre jusqu'à 8 jours. Pendant cette période, les températures minimale et maximale moyennes sont de 25 °C à 28 °C avec une humidité relative de 54 à 73 %. L'apparition des pluies coïncide également avec cette période (Fig. 1).

La larve en sortie d'éclosion a une tête proéminente rouge clair et un corps noir tirant sur le marron avec deux rayures jaunes de chaque côté. Tous les segments du corps ont des petites soies. La jeune larve, dès l'éclosion, peut filer un fil de soie ténu qui lui permet de quitter son abri lorsqu'elle est dérangée ou de remonter à l'endroit duquel elle est tombée ; cette aptitude disparaît au cours des mues successives à mesure que l'insecte se développe. La jeune larve se met à chercher sa nourriture. Elle préfère les feuilles tendres des plantes nourricières. Elle fait d'abord enfouir sa tête sous la surface inférieure de la feuille et commence à se nourrir juste en-dessous de la couche épidermale, à la façon d'une larve mineuse. Elle a cinq âges larvaires. La période larvaire varie de 20 à 40 jours (Fig. 1). La chenille mature est très reconnaissable et se dissimule sous la feuille lorsque le soleil devient trop chaud. La tête est de couleur vermillon. Le corps est rayé jaune et blanc et garni de touffes de poils à bouts noirs et de soies de couleur noire.

La variation de la période larvaire a été observée par plusieurs chercheurs (Collenette, 1933 ; Cameron, 1970). Wickman (1976) a observé le développement larvaire chez *Hemerocampa pseudosugata*. Celui-ci varie fortement suivant les espèces, voire, dans certains cas, à l'intérieur d'une même espèce. Soule (1895) a remarqué un phénomène similaire chez d'autres lépidoptères. Chez certaines espèces, des différences sexuelles ont été observées, les larves femelles subissant une mue de plus que les mâles, comme chez *Orgyia antiqua*. Chapman (1887) a observé que, chez *Orgyia antiqua*, les larves qui muent trois fois produisent des mâles, celles qui muent quatre fois donnent des imagos des deux sexes. Chez *Notolophus antiqua*, quatre mues ont été observées pour les deux sexes.

Les chenilles se métamorphosent dans des cocons sur les feuilles de *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa*. Au cours de la période prépupale, les chenilles se rétractent et leur couleur passe au blanc crème-jaunâtre. La période pupale varie de 9 à 12 jours chez le zigzag. Grant (1981) a observé que le stade pupal varie de 10 à 12 jours chez l'orgyie blanche.

Les résultats de la présente étude corroborent ceux d'autres chercheurs. L'émergence des papillons se produit tôt le matin. Les variations importantes de la période d'incubation, de la période larvaire et de la période pupale obtenues dans cette étude pourraient être attribuées à la faible température et à la forte humidité relative en novembre-décembre et à la haute température et à la faible humidité relative en mars-avril (Fig. 2).

A NEW RECORD OF *PARACAROPHENAX DERMESTIDARUM* RACK (ACARINA : ACAROPHENACIDAE) ATTACKING THE EGGS OF *DERMESTES ATER* DEGEER (COLEOPTERA : DERMESTIDAE) IN INDIA

M. GEETHA BAI

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

Paracarophenax dermestidarum has been recorded as preying on the eggs of *Dermestes ater* for the first time in India. The details of the infestation of adult *D. ater* and eggs are presented. The extent of the damage caused by the mites to *D. ater* eggs in the laboratory, some details of reproduction of *P. dermestidarum* and their behaviour towards *B. mori* eggs are described.

Keywords : *Paracarophenax dermestidarum*, *Dermestes ater*, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

Dermestes ater is one of the serious pests of *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) in some grainages of Karnataka, India (Patil and Govindan, 1985 ; Thiagarajan and Govindiah, 1987 ; Geetha, 1988). Developing and adult *D. ater* being omnivorous, feed on eggs, dead or living pupae and moths of *B. mori*. Even though the control of insect pests of *B. mori* using insecticides and through management and cultural practices has been suggested by the above authors, no work was carried out on their natural enemies in India. Since the application of insecticides and cultural practices are not always practical, as a more delicate and highly domesticated insect namely, *B. mori* is also handled here, the role of natural enemies of the insect pests was investigated.

Acarophenax dermestidarum was recorded as a parasite of *Dermestes frischii*, *D. haemorrhoidalis*, *D. carnivorus*, *D. carnivorus dommlingi*, *D. maculatus*, *D. ater*, *D. peruvianus* and *Necrobia rufipes* in West Germany (Rack, 1959). *A. tribolii* is an egg parasite of *Tribolium confusum* and *A. nidicolus* and *A. lacunatus* are probably parasites of coleopterous eggs (Cross and Krantz, 1964). *A. lacunatus* was taken from imagoes of the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus*. *Pigmeophorus* sp. was recorded to attack the eggs of *D. maculatus* in Egypt (Azab, 1972).

P. dermestidarum attacking the eggs of *D. ater* is now recorded for the first time in India. Some details of the observations made in the field and laboratory are presented.

MATERIALS AND METHODS

A survey for natural enemies of some insect pests of *B. mori* in some grainages in the traditional sericultural belt of Karnataka was conducted. Developing and adult *D. ater* collected in the field were examined for natural enemies. When infestation of *D. ater* adults with *P. dermestidarum* was noticed, 74 field collected beetles were examined to determine the degree of infestation. The infested beetles held in screened plastic cages (22 × 11 × 11 cm) were fed on living or dead pupae or moths of *B. mori* and observed daily. The details of beetle egg infestation, such as the number of mites feeding on each egg, egg hatchability and feeding behaviour of *P. dermestidarum* were noted in six egg batches. The behaviour of *P. dermestidarum* towards *B. mori* eggs was studied. Two layings of *B. mori*, four days after they were laid, were placed in a screened plastic container with 100 mite-infested *D. ater*.

Simultaneously, a control with two layings kept along with uninfested beetles was also maintained. After 24 hours, *B. mori* layings were examined daily for the presence of mites, the damage caused by mites or beetles and their hatchability were recorded.

RESULTS AND DISCUSSION

When *D. ater* adults collected from the field were examined a large number of globular, milky white mites were found clinging on the ventral surface, especially on the head and thorax (Fig. 1). The number of mites on the body of a beetle ranged from 1 to 64 and averaged 15. Of the 74 field collected beetles, 36 were infested (48.65 %).

In the laboratory *D. ater* females oviposited in dark places, such as inside cocoons, small holes made in containers to promote aeration and covered with black paper. The eggs are elongated, milky white, with a leathery soft covering. The beetle eggs were isolated in petridishes using a soft camel hair brush. Many mites were found clinging to the beetle eggs. They punctured the egg chorion and sucked the egg contents. Fully fed mites appeared as milky white, shining globules. One hundred and seventy-nine eggs of *D. ater* in six batches were examined for infestation by *P. dermestidarum*. The infestation ranged from 37.5 to 100 % (average = 89.4 %). All infested eggs invariably did not hatch. Only those eggs which escaped mite infestation hatched successfully. Of the 15 infested eggs examined, 1 to 12 mites were found to attack an egg (average = 6). Grubs of all the instars examined were not infested with *P. dermestidarum*.

When fed mites were held in petridishes and observed once in every 24 hrs., young ones developing inside some mites were seen, through the transparent body wall, two days after feeding. On the third day young ones emerged, after biting through the abdomen of mother mites. The mother mites died before all the young ones emerged.

Preliminary observations indicate that these mites are not attracted to *B. mori* eggs, since no mites were found on the eggs or egg cards. A large number were found actively moving on the inner surface of the container. Some *B. mori* eggs were attacked by *D. ater*. However, detailed studies need to be carried out to ascertain if *P. dermestidarum* is injurious to *B. mori*.



Fig. 1 : *Dermestes ater* adult infested with *Paracarophenax dermestidarum*.

Fig. 1 : *Dermestes ater* adulte infesté par *Paracarophenax dermestidarum*.

Kishida (1940) has recorded *Macrocheles* attacking *B. mori* worms in Japan. *Pyemotes* (*Pediculoides*) *ventricosus*, which attacks many species of insects and mites, including young larvae and pupae of *B. mori* in Japan, was reported to occur in cocoons in India (Subba Rao *et al.*, 1965). In the light of these findings, it is necessary to conduct detailed studies on *P. dermestidarum* in relation to *B. mori*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to the Director, KSSDI, for facilities provided. The technical assistance of supporting staff of Silkworm Protection laboratory is gratefully acknowledged. Thanks are due to Dr B. Mallik and Dr Gisela Rack for identifying the mite.

REFERENCES

- AZAB A. K., TAWFIC M. F. S., ABOUZEID N. A. (1972), The biology of *Dermestes maculatus* Degeer. Bull. de la Société Ent. d'Egypte, 56, 1-14.
- CROSS E. A., KRANTZ G. W. (1964), Two new species of the genus *Acarophenax* Newstead and Duvall 1918 (Acarina : Pyemotidae). Acarologia, 4, 289-295.
- GEETHA BAI M. (1988), Pests of *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) in grainages and their control. Sericologia, 28, 379-382.
- KISHIDA K. (1940), A mite injurious to silkworm, Oyo-Dobuts. Zasshi, 12, 113-116.
- PATIL G. M., GOVINDAN R. (1985), Beetles attacking silk cocoons and their control. Reshmi Krishi, 7, 15-17.
- RACK G. (1959), *Acarophenax dermestidarum* sp. n. (Acarina : Pyemotidae), ein Ei Parasit von *Dermestes*. Arten. Z. Parasitenkunde, 19, 411-481.
- SUBBA RAO T., VENKATARATNAM A., SATYANARAYANACHARLU N. (1963), Occurrence of *Pediculoides ventricosus* (Newport) in silk cocoons. Indian J. Ent., 27, 232-233.
- THIAGARAJAN V., GOVINDAIAH. (1987), Menace of dermestid beetles in grainages. Indian Silk, 26, 26-27.

PREMIERE OBSERVATION DE L'INFESTATION DES OEUFS DE *DERMESTES ATER* DEGEER (COLEOPTERA : DERMESTIDAE) PAR *PARACAROPHENAX DERMESTIDARUM* RACK EN INDE

M. GEETHA BAI

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

On a observé, pour la première fois en Inde, l'infestation des oeufs de Dermestes ater par Paracarophenax dermestidarum. Les caractéristiques de l'infestation des adultes et des oeufs de D. ater sont présentées ici. L'étendue du dommage causé par ces acariens aux oeufs de D. ater en laboratoire, certaines données concernant la reproduction de P. dermestidarum et son action sur les oeufs de B. mori sont également décrites.

INTRODUCTION

Dermestes ater est l'un des principaux parasites de *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) dans les grainages du Karnataka en Inde (Patil et Govindan, 1985 ; Thiagarajan et Govindaiah, 1987 ; Geetha, 1988). *D. ater*, étant omnivore aux stades larvaire et adulte, se nourrit d'oeufs, de chrysalides vivantes ou mortes et de papillons de *Bombyx mori*. Bien que les auteurs cités ci-dessus aient proposé de lutter contre les parasites de *Bombyx mori* au moyen d'insecticides et par la gestion et les pratiques agricoles, aucun travail n'a été effectué sur son prédateur naturel en Inde. Etant donné que l'application d'insecticides et les techniques agricoles ne sont pas toujours appropriées, un insecte plus délicat et hautement domestiqué, à savoir *B. mori* étant également manipulé dans le même environnement, on a fait des recherches sur le rôle des prédateurs naturels de parasites insectivores.

On a observé qu'*A. acarophenax* est un parasite de *Dermestes frischii*, *D. carnivorus*, *D. carnivorus dommlingi*, *D. maculatus*, *D. ater*, *D. peruvianus* et *Necrobia rufipes* en Allemagne de l'Ouest (Rack, 1959). *A. tribolii* est un parasite des oeufs de *Tribolium confusum*, il est probable que *A. nidicolus* et *A. lacunatus* soient des parasites des oeufs de coléoptères (Cross et Krantz, 1964). On a prélevé *A. lacunatus* sur les imagos du coléoptère *Cryptolestes ferrugineus*. On a observé que *Pigmeophorus* sp. infeste les oeufs de *D. maculatus* en Egypte (Azab, 1972).

L'infestation des oeufs de *D. ater* par *P. dermestidarum* est observée pour la première fois en Inde. Certains détails des observations faites dans le milieu naturel et en laboratoire sont présentés ici.

MATERIELS ET METHODES

On a effectué une étude sur les prédateurs naturels de certains parasites insectivores de *B. mori* dans certains grainages de la ceinture séricicole traditionnelle du Karnataka. On a recherché les prédateurs naturels de *D. ater* sur des larves et des adultes prélevés dans leur milieu naturel. Une fois l'infestation des adultes de *D. ater* par *P. dermestidarum* établie, 74 coléoptères prélevés dans leur milieu naturel ont été examinés afin de déterminer le degré d'infestation. Les coléoptères infestés, placés dans des cages en plastique (22×11×11 cm) recouvertes d'un voile, sont nourris de chrysalides vivantes ou mortes ou de papillons de *B. mori*. Les observations sont relevées quotidiennement. Les caractéristiques de l'infestation des oeufs des coléoptères, telles que le nombre d'acariens par oeuf,

le taux d'éclosion des oeufs et le comportement alimentaire de *P. dermestidarum*, sont notées pour six lots d'oeufs. On a étudié l'action de *P. dermestidarum* sur les oeufs de *B. mori*. Deux pontes de *B. mori*, quatre jours après la ponte, sont placées dans un récipient en plastique recouvert d'un voile avec 100 *D. ater* infestés par des acariens. Parallèlement, deux pontes comprenant des coléoptères non infestés sont conservés comme témoin. Après 24 heures, les pontes de *B. mori* sont examinées quotidiennement en vue d'établir la présence d'acariens et le dommage causé par les acariens ou les coléoptères ; le taux d'éclosion des oeufs est ensuite relevé.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'examen des adultes de *D. ater* prélevés en milieu naturel révèle qu'un grand nombre d'acariens de forme sphérique et de couleur blanc crème sont accrochés à la surface ventrale, principalement sur la tête et le thorax (Fig. 1). Le nombre d'acariens sur le corps d'un coléoptère varie de 1 à 64 et est en moyenne de 15. Sur les 74 coléoptères prélevés en milieu naturel, 36 sont infestés (48.65 %).

En laboratoire, les femelles de *D. ater* pondent dans des endroits sombres, par exemple à l'intérieur des cocons, dans des petites cavités faites dans les récipients pour permettre l'aération et recouverts de papier noir. Les oeufs sont de forme allongée, de couleur blanc crème, avec une coque rappelant le cuir.

Les oeufs des coléoptères ont été isolés et placés dans des boîtes de Pétri à l'aide d'une brosse en poils de chameau souple. On observe que de nombreux acariens sont accrochés aux oeufs des coléoptères. Ils percent le chorion de l'oeuf et sucent le contenu de l'oeuf. Lorsqu'ils sont nourris, les acariens ont l'apparence de sphères brillantes, de couleur blanc crème. On a examiné l'infestation par *P. dermestidarum* de 179 oeufs de *D. ater* répartis en six lots. Le taux d'infestation varie de 37,5 à 100 % (moyenne = 89,4 %). Aucun des oeufs infestés n'écloît. Seuls les oeufs ayant échappé à l'infestation des acariens ont pu éclore. Sur les 15 oeufs infestés examinés, on a observé la présence de 1 à 12 acariens par oeuf (moyenne = 6). Les asticots de tous les âges examinés ne sont pas infestés par *P. dermestidarum*.

Lorsque les acariens nourris sont conservés dans des boîtes de Pétri et examinés toutes les 24 heures, on observe, à travers la paroi transparente du corps, que les jeunes se développent à l'intérieur de certains acariens deux jours après le nourrissage. Le troisième jour, les jeunes émergent en mordant la paroi de leurs mères. Les mères meurent avant que tous les jeunes aient émergé.

Les observations préliminaires indiquent que ces acariens ne sont pas attirés par les oeufs de *B. mori* car aucun acarien n'est observé sur les oeufs ou sur les cartes de pontes. On observe qu'un grand nombre d'acariens circulent sur la surface intérieure du récipient. Certains oeufs de *B. mori* sont infestés par *D. ater*. Cependant, des études détaillées sont nécessaires pour savoir si *P. dermestidarum* est nuisible pour *B. mori*.

Kishida (1940) a observé l'infestation des larves de *B. mori* par *Macrocheles* au Japon. *Pyemotes* (*Pediculoides*) *ventricosus*, qui infeste de nombreuses espèces d'insectes et d'acariens, y compris les jeunes larves et les chrysalides de *B. mori* au Japon, a été observé sur les cocons en Inde (Subba Rao et coll., 1965). Ces résultats montrent qu'il est nécessaire de mener une étude détaillée sur l'action de *P. dermestidarum* chez *B. mori*.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / Bulgarian

(D) Allemand / German

(F) Français / French.

(K) Coréen / Korean.

(Pt) Portuguais / Portuguese.

(Ro) Roumain / Rumanian.

(C) Chinois / Chinese.

(E) Anglais / English.

(J) Japonais / Japanese.

(Pl) Polonais / Polish.

(R) Russe / Russian

(S) Espagnol / Spanish.

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

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

Sériciculture générale

General sericulture

New silkworm varieties of Pakistan.

De nouvelles variétés de vers à soie au Pakistan.

AHMAD M. I., PARK K. E.,

Pakistan Forest Inst., Peshawar, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 155-166. (E)

Progress of sericulture research and development in Pakistan.

Progrès de la recherche et du développement séricicole au Pakistan.

AHMAD M.I.

Pakistan Forest Inst., Peshawar, Pakistan.

1990 Pakistan Journal Forestry, Vol. 40(2), 143-148. (E)

Au fil de la soie (Architecture d'une industrie en Cévennes).

Through the silk thread (Architecture of an industry in Cévennes).

DURAN G., WIENIN M. *et al.*

Assoc. Connaissance du Patrimoine, 5 rue de la la Salle l'Evêque. BP2051 Montpellier. France.

1991 Association Connaissance du Patrimoine, 96 p. (F)

Analysis of the ecosystem of mulberry poultry and livestock.

Analyse de l'écosystème mûrier -élevage de volaille-bétail.

GONG L.

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, Inst. of Sericulture, China.

1989 Research for Agricultural Modernization, Vol. 10(3), 27-29. (C)

Summing-up on the extension of technique "space cage with individual leaf rearing silkworm" in Huazhou (China).

Synthèse sur l'utilisation de la technique "d'élevage individuel des vers à soie " à Huazhou en Chine.

HUANG C., HUANG X., YIE X.

Hudong Sericultural Station, Huazhou, Guangdong, China.

1989 Guangdong Sericultural Newsletter, Vol. 3, 1-8. (C)

Studies on improvement of training methods in the mulberry field for mechanical harvest.

Etudes sur l'amélioration des méthodes de formation pour la pour la récolte mécanique du mûrier.

IWAZAKI K., SEKI K.

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

1988 Gunma Journal of Agric. Research, Series B, Seric., Japan, Vol. 5, 7-10. (J)

Sericulture in Sind (Pakistan).

Sériciculture dans la région de Sind (Pakistan)

KHAN A. A.

Sericulture Dept., Hyderabad, Pakistan

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 201-202. (E)

Sericulture in NWFP (Pakistan).

Sériciculture au NWFP (Pakistan).

KHAN M. B.

NWFP Sericulture Dept., Peshawar, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 199-200. (E)

Sericulture in Azad Jammu and Kashmir (Pakistan)

Sériciculture dans l'état d'Azad Jammu et du Cachemire au Pakistan.

KHAN S. M. S.

Industries and Sericulture Dept., Muzaffarabad, Azad Jammu & Kashmir, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 195-196. (E)

Sericulture training manual.

Manuel de sériciculture.

LIM S. H., KIM Y. T., LEE S. P., RHEE I. J., LIM J. S., LIM B. H.

Sericultural Experiment Station, Office of Rural Development, Suwon, Korea.

1990 FAO Agricultural Service Bull., n 80, 125 p. (E)

Village homegarden cultivation in northeast Thailand. 1. Seasonal changes of cropping.

Culture dans des exploitations familiales au nord-est de la Thaïlande. 1. Variations saisonnières des récoltes.

MIYAGAWA S., KONCHAN S.

Faculty of Agric., Gifu Univ., Gifu, Japan.

1991 Abstracts on Tropical Agric., Vol. 16(7), 52. (e)

Present status of sericulture in Punjab (Pakistan).

Etat actuel de la sériciculture dans la région du Punjab au Pakistan.

MUSLIN M. M.

Punjab Forestry Research Inst., Faisalabad, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 197-198. (E)

Silk seed production in Pakistan.

Production de graines de soie au Pakistan.

SIDDIQUI K. M.

Pakistan Forest Inst., Peshawar, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 139-142. (E)

Mulberry Resources in Hebei province.

Ressources en mûriers dans la province de Hebei.

WU Y-B., PANG Y-L., ZHANG J-X.

Seric. Research Inst., Hebei Academy of Agric. & Forestry Sciences, Chendge 067000, China.

1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 1-4. (C, e)

The development of sericultural production in Maoming, Zhanjiang (China) - The newly developed areas.

Développement de la production séricole à Maoming, Zhanjiang (Chine) - Les nouvelles zones développées.

YENG C.

Guangdong Provincial Co. of Silk Cloth, Guangzhou, China.

1989 Guangdong Sericultural Newsletter (China), Vol. 3, 14-15. (C)

Suggestion on spreading up the extension of mulberry variety "Kang 10" to stabilize the sericultural industry in Huazhou (China).

Proposition d'étendre l'utilisation de la variété de mûrier "Kang 10" afin de stabiliser l'industrie séricole à Huazhou en Chine.

YIE X., WANG G., HUANG H.

Huazhou Country Silk Cloth Co., Guangdong, China.

1989 Guangdong Sericultural Newsletter, Vol. 3, 11-13. (C)

Rearing conditions of labor-saving silkworm rearing at grown stage and its relations to cocoon crops in summer and autumn.

Economie de travail dans les élevages de vers à soie au dernier stade en rapport avec les récoltes d'été et d'automne.

YOMODA M., SUDA C., OKANO T., KOYAMA C.

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

1988 Gunma Journal of Agric. Research, Series B, Vol. 5, 11-16. (J)

Utilization of silkworm pupae - an ingredient of pellet feed for crabs.

Utilisation des chrysalides de vers à soie comme ingrédient des boulettes de nourriture pour crabes.

YU X., LIN J., WU S.

Shaoxing Municipal School of Agriculture, Zhejiang, China.

1990 Bulletin of Sericulture, N 1, 66-67. (C)

Mûrier

Mulberry

Progress of moriculture research in Pakistan.

Progrès des recherches en moriculture au Pakistan.

AHMAD M. I., HAFIZ I. A.

Pakistan Forest inst., Peshawar, Pakistan.

1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 179-185. (E)

Studies on efficient use of herbicides in mulberry field.

Etudes sur l'utilisation efficace des herbicides dans les champs de mûriers.

ARAI M., OKA K., KOJIMA S.

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

1988 Gunma Journal of Agric. Research, Series B, Sericulture, Vol. 5, 1-66. (J)

Standardisation of "moulting test" to evaluate mulberry leaf quality under tropical conditions.

Uniformisation des tests afin d'évaluer la qualité de la feuille de mûrier en conditions tropicales.

BENCHAMIN K. V., and ANANTHA RAMAN K. V.

Silkworm Physiol. Lab., Central Seric. Research & Training Inst., Mysore 570 008, India.

1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 255-262. (E,f)

Studies on absorption and accumulation of atmospheric fluorides by different cultivars of mulberry.

Etudes sur l'absorption et l'accumulation de fluorures atmosphériques par différents cultivars de mûriers.

CHAI X., ZHOU S., SHEN Y., ZHOU J.

The Zhejiang Provincial Acad. of Agric. Sciences, Hangzhou, Inst. of Seric., China.

1990 Bulletin of Sericulture, N 2, 29-31. (C)

Effect of green manuring, dry weed and black polythene mulching on soil moisture conservation, growth and yield of mulberry and their economics under rainfed condition.

Effet de l'engrais vert, du désherbage et du paillage au polythène noir sur la préservation de l'humidité du sol, la croissance et le rendement du mûrier et sa rentabilité en l'absence d'irrigation.

DAS P. K., CHOUDHURY P. C., GHOSH A., MALLIKARJUNA B. *et al.*

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

1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 263-272. (E,f)

Nodal anatomy in *Morus* L.

Anatomie nodale chez *Morus* L.

GOVINDAIAH, SENGUPTA K, SURYANARAYANA N.

Central Sericultural Research & Training Institute, Srirampuram, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 159-161. (E,f)

***Fusarium pallidoseum* (Cooke) Sacc. - A new pathogen causing leaf blight in mulberry (*Morus alba* L.).**

Fusarium pallidoseum (Cooke) Sacc. - un nouveau pathogène causant la rouille sur les feuilles de mûrier (*Morus alba* L.).

GOVINDAIAH, SHARMA D. D., SINGHAL B. K., SENGUPTA K.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 291-292. (E)

Study on the genetic resources of tetraploid mulberry tree. C: Investigation on the fruiting ability from the seeds and its quality.

Etude sur les ressources génétiques du mûrier tétraploïde. C: Recherche sur la capacité de fructification à partir de la graine.

GUO Z., WANG X., FU L.

Guangdong Provincial Academy of Agric. Sciences, Guangzhou, Seric. Research Inst. China.

1989 *Guangdong Sericultural Newsletter*, Vol. 3, 31-34. (C)

The relation between hybrid vigor and the type of peroxidase isoenzyme in the mixed buds of mulberry trees.

Relation entre la vigueur hybride et le type d'isoenzyme de la peroxydase dans les bourgeons mixtes des mûriers.

HUANG Y., LU J.

South China Agric. Univ., Guangzhou, Dept. of Sericulture, China.

1989 *Guangdong Sericultural Newsletter*, Vol. 3, 39-41. (C)

Continuous detection of mulberry stumps by the use of ultrasonic ranging system.

Détection continue des souches de mûrier à l'aide d'un système de repérage ultrasonique placé sur un tracteur.

KOBAYASHI T.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 221-232. (J, e)

Effects of copper and manganese application on nickel toxicity in mulberry seedlings.

Effets de l'application de cuivre et de manganèse sur la toxicité du nickel dans les plants de mûriers.

LOU C., HOMMA S., KUNO K.

faculty of Agriculture, Tokyo Univ. of Agric. and Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 200-207. (J, e)

Effects of nickel concentration on growth, photosynthetic rate in mulberry cuttings.

Effets de la concentration en nickel sur la croissance et le taux photosynthétique des boutures de mûriers.

LOU C., HOMMA S., KUNO K.

Fac. of Agriculture, Tokyo Univ. of Agric. & Tech., Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 192-199. (E)

The effect of "Jian-Sheng-Su" - a plant growth substance on mulberry leaf yield and cocoon production.

Effet du "Jian-Sheng-Su", une substance de croissance des plantes, sur le rendement en feuilles du mûrier et la production de cocons.

LUO G., CHEN X., LI B.

Guangdong Provincial Acad. of Agric. Sciences, Guangzhou, Seric. Research Inst., China.

1989 *Guangdong Seric. Newsletter*, Vol. 3, 49-50. (C)

Application of mulberry branches on cultivation of edible fungi (China).

Utilisation de branches de mûrier dans la culture de champignons comestibles (Chine).

MO T., LI Q., TAN T.

Guangxi Agricultural Coll., Nanning, Dept. of Plant Protection, China.

1989 *Journal of Guangxi Agric. College*, Vol. 8(4), 41-45. (C)

Simultaneous measurement of transpiration and water absorption in mulberry tree.

Mesures simultanées de la transpiration et de l'absorption d'eau chez le mûrier.

OHNISHI T.

Faculty of Textile Sci., Kyoto Inst. of Tech., Matsugasaki, Sakyo-ku Kyoto 606, Japan.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 233-235. (E)

Separation of free cells from the hypocotyl of mulberry.

Séparation de cellules de l'hypocotyle du mûrier.

OHNISHI T., KOBAYASHI Y.

Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 117-124. (J,e)

Sugar contents in mulberry syncarp.

Contenu en sucres du syncarpe du mûrier.

OHNISHI T., SASAKI Y.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 146-149. (J)

Breeding of high yielding mulberry "Suseongppong" (*Morus alba* L.) for adult silkworms.

Culture de mûrier "Suseongppong" (*Morus alba* L.) à fort rendement pour les vers à soie adultes.

PARK K. J., NAM H. W., KIM H. R., KIM Y. T., YANG S. Y.

Development Administration, Sericultural Experiment Station, Suwon Korea Republic.

1990 *The Research Reports of the Rural Development*, Vol. 32(2), 11-26. (K)

Evaluation of four new mulberry varieties through silkworm rearings under irrigated condition.

Evaluation de quatre nouvelles variétés de mûriers cultivées sous irrigation par des élevages de vers à soie.

SATYANARAYANA RAJU Ch., PALLAVI S. N., MUNIRATHNAM REDDY M. *et al.*

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 240-247. (E,f)

Characteristics of the new mulberry (*Morus alba*) R1 in its growth in winter.

Caractéristiques de croissance du nouveau mûrier (*Morus alba*) R1 en hiver.

SHIKATA M.

Ryukyu University, Naha, Coll. of Agriculture, Japan.

1988 *Science Bull. of the College of Agric.*, Vol. 35, 147-153. (J)

Production of phytoalexin in cortex tissue of mulberry shoot.

Production de phytoalexine dans le cortex des pousses de mûrier.

SHIRATA A.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1978 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol 44(4), 485-492, (J,e)

Antifungal activity of bark pieces of mulberry shoot and factors causing its change.

Activité antifongique des écorces de pousses de mûrier et facteurs causant son changement.

SHIRATA A.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1982 *Annal of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 48(2), 147-152, (J,e)

Excision of bud explant for cultivation from winter shoot of mulberry plant by "hollow out method".

Excision par la méthode d'échancrure de bourgeons provenant de pousses d'hiver de plants de mûrier en vue de leur culture.

SHIRATA A., MORIYAMA H.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 41-43. (J)

Production of antifungal substances in the root of mulberry.

Production de substances antifongiques dans la racine de mûrier.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305 Japan

1982 *Bull. of Seric. Exper. Station*, Vol. 28(5), 691-705, (J,e)

Production of accumulation of antifungal substances in xylem tissue of shoots of plants belonging to Moraceae.

Production et stockage de substances antifongiques dans le xylème des pousses des plantes de la famille des Moracées.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1979 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 45(2), 156-161, (J,e)

Production of phytoalexins in xylem tissue of mulberry shoot.

Production de phytoalexine dans le xylème des pousses de mûrier.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1979 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 45(2), 162-167, (J,e)

Detection of antifungal and bacterial substances in shoot epidermis of mulberry and arboreal plants.

Détection de substances antifongiques et antibactériennes dans l'épiderme des pousses de mûrier et des plantes arboricoles.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1978 *Bull. of Seric. Exper. Station*, Vol. 27(5), 637-646, (J,e)

Detection of antifungal substances in root epidermis of mulberry (*Morus alba* L.)

Détection de substances antifongiques dans l'épiderme de la racine de mûrier (*Morus alba* L.)

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305 Japan

1983 *Bull. of Seric. Exper. Station*, Vol. 28(6), 771-779. (J,e)

Antifungal activity of the tissues of mulberry and arboreal plants.

Activité antifongique des tissus du mûrier et des plantes arboricoles.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1982 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 48(2), 141-146 (J,e)

Detection and production of antimicrobial substances in leaves of mulberry and other Moraceae tree plants.

Détection et production de substances antimicrobiennes dans les feuilles de mûrier et autres arbres de la famille des Moracées.

SHIRATA A., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1982 *Bull. of Seric. Exper. Station*, VOL. 28(5), 707-718

Antimicrobial spectra of the compounds from mulberry.

Les spectres antimicrobiens des composés du mûrier.

SHIRATA A., TAKAHASHI K., TAKASUGI M., NAGAO S. *et al.*

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1983 *Bull. of Seric. Exper. Station*, Vol. 28(6), 793-806, (J,e)

Antifungal substances in infected shoots of arboreal plants.

Substances antifongiques dans les tiges infectées des plantes arboricoles.

SHIRATA A., TAKAHASHI K., TOMIYAMA K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1978 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 44(3), 340-343, (J,e)

Increases in peroxidase and polyphenoloxidase-activities and production of antifungal substances in mulberry shoots following wounding or infection by pathogenic fungi.

Augmentations des activités peroxydase et polyphénoloxydase et production de substances antifongiques dans les pousses de mûrier à la suite de blessures ou d'infections par des champignons pathogènes.

SHIRATA A., TOMIYAMA K., DOKE N., TAKAHASHI K.

National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1981 *Annals of the Phytopathol. Soc. of Japan*, Vol. 44(2), 127-136, (J,e)

Comparison of photosynthetic rates and chlorophyll contents among mulberry varieties.

Comparaison des taux photosynthétiques et des contenus en chlorophylle entre des variétés de mûriers.

SHIRATA A., YAZAWA M.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 23-40. (J)

Seasonal change of the photosynthetic rates of leaves and shoots of mulberry plants cultivated in the field.

Variations saisonnières des taux photosynthétiques des feuilles et des pousses des mûriers cultivés en champs.

SHIRATA A., YAZAWA M.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 9-21. (J)

Development and severity of cercospora leaf spot of mulberry in relation to environmental factors.

Développement et gravité de la maladie de la tache des feuilles cercospora chez le mûrier en fonction des facteurs environnementaux.

SIDDARAMAIAH A. L., HEGDE R. K.

Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Dharwad 580 005, India.

1989 *Mysore J. of Agric. Sci.*, Vol. 23, 189-192. (E)

Effect of amendments on soil properties and mulberry crop yield in an alkali soil.

Effet de l'amendement sur les propriétés du sol et la récolte de mûrier pour un sol alcalin.

SUBBASWAMY M. R., MUNIRATHNAM REDDY M., MALLIKARJUNA B. *et al.*

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 279-281. (E)

Variation in chlorophyll A, B, and total chlorophyll content in F1 hybrids of mulberry (*Morus sp.*).

Variation du contenu en chlorophylles A et B, et en chlorophylle totale, chez les hybrides du mûrier *Morus sp.*

SUSHEELAMMA B. N., VENKATESHWARLU M., SENGUPTA K. *et al.*

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 282-283. (E)

Effect of indole-3-acetic acid and 2,3,5-triiodobenzoic acid applied in lanolin on lateral bud growth of stem sections of *Morus alba* L.

Effet de l'acide indole-3-acétique et de l'acide 2,3,5-triiodobenzoïque appliqués dans de la lanoline sur la croissance des bourgeons latéraux de boutures de *Morus alba* L.

SUZUKI T.

Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 143-145. (E)

Adventitious abscission of apices of short shoots in low-pruned *Morus alba* L.

Abscissions adventives des apex des petites pousses chez le mûrier *Morus alba* conduit en taille basse.

SUZUKI T.

Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 140-142. (E)

Ethephon-induced petiole epinasty and leaf abscission in mulberry.

L'épinastie du pétiole et l'abscission des feuilles induits par l'éthéphon chez le mûrier.

SUZUKI T., FUJIBAYASHI H., KITANO M., KOHNO K.

1990 *Agr. Biol. Chem.*, Vol. 54, 2461. (E)

Production of antifungal substances in mulberry.

Production de substances antifongiques chez le mûrier.

TAKAHASHI K. SHIRATA A.

Dept. of Pathol., National Inst. of Agricul. Sciences, Yatabe, Tsukuba, 305, Japan

1982 *JARQ*, Vol. 16(2), 119-124, (J,e)

Structures of moracins E, F, G and H, new phytoalexins from diseased mulberry.

Structure des moracines E, F, G et H, de nouvelles phytoalexines issues de mûrier malade.

TAKASAGI M., NAGAO S., MASAMUNE T.

Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan

1979 *Tetrahedron Letters*(48), 4675-4678 (E)

Broussonins A and B, new phytoalexins from diseased paper mulberry.

Broussonines A et B, des nouvelles phytoalexines issues de mûrier malade.

TAKASUGI M., ANETAI M., MASAMUNE K., SHIRATA A., TAKAHASHI K.

Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan

1980 *Chemistry Letters, The Chemical Society of Japan*, 339-340 (E)

The co-occurrence of flavan and 1,3-diphenylpropane derivatives in wounded paper mulberry.
Présence simultanée de dérivés de flavan et de 1,3-diphénylpropane chez le mûrier blessé.

TAKASUGI M., KUMAGAI Y., NAGAO S., MASAMUNE T., SHIRATA A., KATAHASHI
Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan
1980 Chemistry Letters, The Chemical Society of Japan, 1459-1460, (E)

Chalcomoracin, a natural diels-alder adduct from diseased mulberry.

Chalcomoracine, un adduit de diels-alder naturel issu de mûrier malade.

TAKASUGI M., NAGAO S., MASAMUNE T., SHIRATA A., TAKAHASHI K.
Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan
1980 Chemistry Letters, The Chemical Society of Japan, 1573-1576, (E)

Moracine C and D, new phytoalexins from diseased mulberry.

Moracine C et D, deux nouvelles phytoalexines issues du mûrier malade.

TAKASUGI M., NAGAO S., UENO S., MASAMUNE T., SHIRATA A., TAKAHASHI K.
Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan
1978 Chemistry Letters, The Chemical Society of Japan, 1239-1240, (E)

Proline metabolism during water stress in mulberry.

Métabolisme de la proline au cours du stress hydrique chez le mûrier.

VERRANJANEYULU K., KUMARI B.D.R.
Department of Botany, Sri Krishnadevaraya Univ., Anantapur 515003, India.
1989 Journal of Experimental Botany, Vol. 40(214), 581-583. (E)

Effects of fluoride on mulberry ecosystem in Haian County, Jiangsu Province (China).

Effets du fluorure sur l'écosystème du mûrier à Haian dans la province de Jiangsu en Chine.

WANG Y.
Environmental Protection and Monitoring Station of Haian County, Jiangsu, China.
1990 Rural Eco-Environment (China), N3, 67-70. (C)

Micropropagation of *Morus nigra* L. from shoot tip and nodal explants of mature trees.

Micropropagation de *Morus nigra* L. à partir des extrémités des pousses et des explants nodaux d'arbres matures.

YADAV U., LAL M., JAISWAL V. S.
Laboratory of Morphogenesis, Banaras Hindu Univ., Varanasi, Uttar Pradesh, India.
1990 Scientia Horticulturae, Vol. 44(1/2), 61-67. (E)

Variation of abscisic acid (ABA) content of mulberry winter buds subjected to low temperature.

Variation du contenu en acide absicisique des bourgeons d'hiver de mûrier soumis à basse température.

YAHIRO M., SAKAI H.
Faculty of Agric. Kagoshima University, Korimoto Kagashima 890, Japan.
1991 Journal Seric. Sci. Japan, Vol. 60(2), 101-104. (J)

Diseases of mulberry : a review.

Maladies du mûrier : revue.

ZAKAULLAH
Pakistan Forest Inst., Peshawar, Pakistan.
1990 Pakistan Journal of Forestry, Vol. 40(2), 187-194. (E)

Vertical distribution magnitude of *Pseudodendrothrips mori* Niwa in mulberry fields.

Distribution verticale de *Pseudodendrothrips mori* Niwa dans les champs de mûriers.

ZHOU L.-J.
1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 55. (C)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie

B. mori : rearing, feeding, pathology

Quantitative assay of cytoplasmic polyhedrosis virus in the feces of the silkworm, *Bombyx mori*, using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Dosage quantitatif du virus de la polyédrose cytoplasmique dans les excréments du ver à soie *Bombyx mori* par le test ELISA.

ARAKAWA A.

Fukushima-ken Seric. Exper. Station, Yanagawa-machi, Date-gun, Fukushima 960-07, Japan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 105-111. (J,e)

Breeding of new multivoltine silkworm race Dak-205.

Elevage d'une nouvelle race de vers à soie polyvoltins Dak-205.

ASHIQ M. N., AHMAD M. I., MUHAMMAD R.

Pakistan Forest Inst., Peshawar, NWFP Sericulture Dept., Peshawar, Pakistan.

1990 *Pakistan Journal of Forestry*, Vol. 40(2), 149-153. (E)

Larval traits of bivoltine silkworm breeds as influenced by mulberry varieties.

Caractères larvaires des souches bivoltines de vers à soie en fonction des variétés de mûriers.

BHEEMANNA C., GOVINDAN R., ASHOKA J., NARAYANASWAMY T. K.

Department of Sericulture, Univ. of Agric. Sciences G. K. V. K., Bangalore 560 065, India.

1989 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 23(4), 520-525. (E)

Resistance of the silkworm races to nuclear polyhedrosis virus

Résistance des races de vers à soie au virus de la polyédrose nucléaire.

CHENG K-P. *et al.*

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 45. (C)

Guidelines for bivoltine sericulture. (abstract)

Directives pour l'élevage de vers à soie bivoltins.

Central Silk Board, Central Sericultural Research & Training Institute, Bangalore 560 004, India.

1991 *Aird News*, Vol. 10(3), 10-11. (E)

Modification of sex-expression and fruit set in mulberry *Morus alba* (Linn.) by morphactin.

Modification de l'expression sexuelle et de la fructification chez le murier *Morus alba* (Linn.) par la morphactine.

DAS B. K., MUKHERJEE S. K.

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore 742 101, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 297-299. (E)

Experimental report on the disinfection with sodium hypochlorite to control silkworm microspora disease.

Rapport expérimental sur la désinfection avec de l'hypochlorite de sodium afin de lutter contre les maladies à microspores du ver à soie.

FANG D., LIAO SENTAI, ZHENG XIANGMING.

Guangdong Provincial Academy of Agric. Sciences, Guangzhou, Seric. Research Inst. China.

1989 *Guangdong Sericultural Newsletter*, Vol. 3, 26-30. (C)

Performance of local and kanva-2 mulberry varieties in respect of leaf and cocoon yield at farmers' level.

Performances des variétés de mûriers locale et Kanva-2 quant aux rendements en feuilles et en cocons chez le fermier.

GIRIDHAR K., LAKSHMANAN S., BENCHAMIN K. V., SENGUPTA K.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 219-226. (E,f)

Variability in larval, silk glands, cocoon and shell weights in some bivoltine single and double cross hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L.

Variabilité des poids de la larve, de la glande séricigène, du cocon et de la coque chez quelques croisements simples et doubles d'hybrides bivoltins du ver à soie *Bombyx mori* L.

GOVINDAN R., MAGADUM S. B., ASHOKA J.

Department of Sericulture, Coll. of Agric., Univ. of Agric. Sci., Dharwad 580 005, India.

1990 *Mysore J. Seric. Sci.*, Vol. 24(2), 222-224. (E)

Comparative variability in cocoon and pupal weights, ovariole length, ovariole egg number and fecundity in some pure breeds and F1 hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L.

Variabilité comparée dans le poids du cocon et de la chrysalide, la longueur de l'ovariole, le nombre d'oeufs et la fécondité entre certaines souches pures et certains hybrides F1 du ver à soie *Bombyx mori* L.

GOVINDAN R., MAGADUM S. B., SATENHALLI S. B., SUHAS YELSHETTY, *et al.*

Department of Sericulture, Univ. of Agricultural Sciences, Bangalore 560 065, India.

1990 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 24(1), 86-88. (E)

Effect of simultaneous infection of silkworm, *Bombyx mori* L. with kenchu virus and *Staphylococcus aureus* Rosenbach.

Effet d'une infection simultanée du ver à soie *Bombyx mori* par le virus de kenchu et *Staphylococcus aureus* Rosenbach.

GOVINDAN R., VEERESH G. K., SHYAMALA, DEVAIAH M. C., *et al.*

Department of Seric., Univ. of Agricultural Sciences, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 273-278. (E,f)

A field study of the influence of climatic factors on the infestation of silkworm, *Bombyx mori* L. by uzi fly *Exorista sorbillans* Wiedemann, in different seasons.

Etude sur l'influence des facteurs climatiques sur l'infestation du ver à soie *Bombyx mori* L. par la mouche uzi *Exorista sorbillans* Wiedeman, au cours des différentes saisons.

GOVINDARAJU R., SARATCHANDRA B., KRISHNAN S.

Dept. of Zoology, Bangalore University, Bangalore 560 056, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 284-288. (E)

Inhibitory effects of antimicrobial chemicals on the sporogenesis of *Nosema bombycis* infecting larvae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets inhibiteurs des produits chimiques anti-microbiens sur la sporogénèse de *Nosema bombycis* infectant les larves du ver à soie *Bombyx mori*.

HAYASAKA S.

National Inst. of Seric. & Entomol. Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 53-64. (J,e)

Studies on the antiseptic effect of DF on artificial diet of *Bombyx mori*.

Etudes sur l'effet antiseptique de DF dans l'alimentation artificielle de *Bombyx mori*.

HE Y., YAN Y.-M.

The seric. Research Inst., Sichuan Academy of Agric. Sciences, Nanchong 637000, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 5-8. (C, e)

Experience of controlling microspora by using sodium hypochlorite for disinfection in silkworm egg production farms.

Essai pour lutter contre les microspores en utilisant de l'hypochlorite de sodium pour la désinfection dans les fermes de production d'oeufs de vers à soie.

HUANG T., CHEN G.

Hejiang Silkworm Egg Production Farm, Huazhou County, Guangdong, China.

1989 *Guangdong Sericultural Newsletter*, Vol. 3, 16-18. (C)

The lawn grass cutworm, *Spodoptera depravata* Butler, as a natural reservoir of *Nosema bombycis* Naegeli.

Le ver des moissons *Spodoptera depravata* Butler, réservoir naturel de *Nosema bombycis* Naegeli.

ISHIHARA R., HIDETOSHI I.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 236-237. (J)

Selection for adaptability to low-cost artificial diet with improved strains of the silkworm, *Bombyx mori*.

Sélection pour l'adaptation à l'aliment artificiel à faible coût de souches améliorées du ver à soie *Bombyx mori*.

KATO M., NAGAYASU K., HIRATA Y., SHIBUKAWA A.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, no. 3, 17-30. (J, e)

Biochemical characteristics of the nuclear polyhedrosis viruses of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, and the silkworm, *Bombyx mori*.

Caractéristiques biochimiques des virus de la polyédrose nucléaire chez *Hyphantria cunea* et le ver à soie *Bombyx mori*.

KIM H. U., JIN B. R., KANG S. K., PARK R. S. *et al.*

Seoul National Univ., Suwon Korea Republic, Coll. of Agriculture, Korea.

1989 *Korean Journal of Applied Entomol.*, Vol. 28(3), 105-112. (E)

Parasitoids of uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae). XII. Biology of *Trichopria* sp. (Hymenoptera : Diapriidae).

Les parasites de la mouche uzi, *Exorista sorbillans* Wiedmann (Diptera : Tachinidae). XII. Biologie de *Trichopria* sp. (Hymenoptera : Diapriidae).

KISHORE R., KUMAR P.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 200-207. (E,f)

Toxicity of MEP to the late 5th instar of silkworm larva.

Effet Toxique du MEP pour les larves du ver à soie en fin de 5ème âge.

KOBAYASHI H., ONO K.

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

1988 *Gunma Journal of Agric. Research, Series B. Sericulture*, Vol. 5, 25-28. (J)

Studies on the alternate host of uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae).

Etudes sur l'hôte alternatif de la mouche uzi, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae).

KUMAR P., KISHORE R., SENGUPTA K.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 194-199. (E,f)

Parasitoids of Uzi fly *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) XI. Degree of seasonal parasitisation of the puparia of Uzy fly by *Trichopria* sp. (Hymenoptera : Diapriidae).

Parasites de la mouche uzi *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) XI. Degré de parasitisme saisonnier du puparium de la mouche uzi par *Trichopria* sp. (Hymenoptera : Diapriidae).

KUMAR P., KISHORE R., SENGUPTA K.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 188-193. (E,f)

Parasitoids of uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae) IX. Effect of host and parasitoid age on parasitization and progeny production of *Nesolynx thymus*.

Les parasites de la mouche uzi, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera : Tachinidae). IX. Effet de l'âge de l'hôte et du parasite sur le parasitisme et la production des descendants de *Nesolynx thymus* (Girault).

KUMAR P., KUMAR A., SENGUPTA K.

Central Sericultural Research & Training Institute, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 208-212. (E,f)

Evaluation of mulberry leaf quality under two systems of pruning for young and late age silkworm rearing.

Evaluation de la qualité des feuilles de mûrier, en fonction de deux systèmes de taille utilisés pour l'élevage des jeunes vers et des vers du dernier âge.

KUMAR V., BENCHAMIN K. V.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 168-173. (E,f)

The principal component analysis on several characters of silkworm strains.

Analyse statistique en composant principal de plusieurs caractères des souches de ver à soie.

LU M-L., XU J-F., XU H-R.

Anhui Agricultural College, Hefei 23000, China.

1991 *Canyue Kexue*, Vol. 17(1), 9-13. (C,e)

Utilities and values of livestock mixed foods as the components of artificial diets for silkworm larva.

Utilités et valeurs des préparations alimentaires pour bétail comme composants des aliments artificiels pour la larve du ver à soie.

MACHIDA J.

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

1989 *Gunma Journal of Agric. Research. Series B. Sericulture*, Vol. 5, 43-50. (J)

Breeding and evaluation of adaptability of the silkworm, *Bombyx mori*, to the new low-cost artificial diet, LPY lacking mulberry leaf powder.

Élevage et évaluation de l'adaptabilité du ver à soie *Bombyx mori* au nouvel aliment artificiel à faible coût, le LPY, ne contenant pas de poudre de feuilles de mûrier.

MANO Y., ASAOKA K., IHARA O., NAKAGAWA H., HIRABAYASHI T.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, no. 3, 31-56. (J,e)

Studies of aseptic rearing system of silkworms on artificial diet introduced in the rearing of young silkworms.

Études d'un système d'élevage aseptisé de jeunes vers à soie sur alimentation artificielle.

MATSUBARA F., YAMADA T., MORI H., SUMIDA M., ICHIDA M.

Department of Applied Biology, Kyoto, Japan.

1991 *Bulletin of Fac. of Textile Sci.*, Vol. 15, 1-10. (J,e)

Improvement of digestibility in an artificial diet of the silkworm, *Bombyx mori*, by addition of processing mulberry leaves powder.

Amélioration de la digestibilité de l'aliment artificiel du ver à soie *Bombyx mori*, en ajoutant de la poudre de feuilles de mûrier.

MATSURA Y.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 45-51. (J)

Effective feeding methods of artificial diets at the 3rd instar of silkworm larva.

Méthodes de nourrissage avec des aliments artificiels des larves de vers à soie au 3ème âge.

MIYAZAWA F.

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

1988 *Gunma Journal of Agric. Research, Series B, Sericulture*, Vol. 5, 33-36. (J)

Studies on rearing and mounting in the silkworm race adapted to the low-cost artificial diet.

Études sur l'élevage et le filage chez la race de ver à soie adaptée à l'aliment artificiel à faible coût.

MIZUSAWA H., KOSAKAI Y., WAKABAYASHI M., MARUYAMA C.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, no. 3, 77-88. (J,e)

A study of promising Japanese races of the silkworm, *Bombyx mori* L. in connection with selection work.

Une étude sur les races japonaises très prometteuses de vers à soie *Bombyx mori* L. en rapport avec le travail de sélection.

NACHEVA Y. O., PETKOV N.

Experimental Station of Sericulture, Vratsa.

1990 *Animal Science*, Vol. 27(8), 98. (B,e)

Effect of food deprivation on dry matter utilization, shell and cocoon weight and fecundity of multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. race nistari.

Effet de la privation de nourriture sur l'utilisation de la matière sèche, les poids de la coque et du cocon et la fécondité des vers à soie polyvoltins *Bombyx mori* L. race nistari.

NATH T. N., NATH S., SHAMSUDDIN M., SUBBA RAO G.

C. S. R. & T. I., Research Extension Centre, Ambari Falakata, Jalpaiguri 735 135, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 174-181. (E,f)

Breeding of multivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. for high cocoon and shell weight.

Sélection de races polyvoltines de *B. mori* afin d'obtenir des poids de cocons et de coques plus élevés.
NOAMANI M. K. R., SENGUPTA K., NAGARAJU J., VIJAYARAGHAVAN K., *et al.*
Central Sericultural Research & Training Institute, Srirampura, Mysore 570 008, India.
1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 227-232. (E,f)

Detection of insect pests of the cocoon at sericultural farm.

Détection des parasites du cocon dans les magnaneries.

ONO K.

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

1988 Gunma Journal of Agric. Research, Series B, Sericulture, Vol. 5, 21-24. (C)

The effect of feeding with egg white on oviposition of silkworms.

Effet du nourrissage avec du blanc d'oeuf sur l'oviposition des vers à soie.

PAN Q.

South China Agricultural Univ., Guangzhou, Dept. of Sericulture, China.

1989 Guangdong Sericultural Newsletter, Vol. 3, 44-45. (C)

Sampling test of *Nosema bombycis* in female silkmoth.

Test d'échantillonnage de *Nosema bombycis* chez le papillon femelle.

PAN S-Y., *et al.*

1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 46. (C)

Centralized breeding of the silkworm during the first ages as an important reserve for increasing the silkworm butterfly productivity.

L'élevage centralisé des vers à soie au cours des premiers âges accroît la production de papillon chez le ver à soie.

PETKOV N., MLADENOV G., TZENOV P.

Experimental Station on Silkworm Breeding, Vratza.

1990 Agricultural Science, Vol. 28(6), 82. (B)

Effect of gamma radiation on the reproductive potential of uzi fly.

Effet de l'irradiation gamma sur le potentiel de reproduction de la mouche uzi.

PRADIP KUMAR, JAYAPRAKAS C. A., RAM KISHORE, SENGUPTA K.

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, India

1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 295-296. (E)

Susceptibility of some races of the silkworm, *Bombyx mori* to white muscardine disease.

Susceptibilité de certaines races de vers à soie *Bombyx mori* à la muscardine blanche.

RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M.

Dept. of Entomology, University of Agric. Sciences, Bangalore 560 065, India.

1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 304-307. (E)

Efficacy of selected plant extracts in reducing the white muscardine disease of silkworm, *Bombyx mori* Linn.

Efficacité de certains extraits sélectionnés de plantes pour lutter contre la muscardine blanche du ver à soie *Bombyx mori* Linn.

RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M.

Department of Entomology, Univ. of Agriculture Sciences, Bangalore 560 065, India.

1990 Mysore J. Agric. Sci., Vol. 24(1), 89-92. (E)

Trichopria sp. (Hymenoptera : Diapriidae), a new record of larval parasite of *Exorista sorbillans* Wiedemann on *Bombyx mori*.

Trichopria sp. (Hymenoptera : Diapriidae), un nouveau parasite larvaire d'*Exorista sorbillans* Wiedemann.

RAM KISHORE, PRADIP KUMAR, SENGUPTA K.

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 308-309. (E)

Survey of the relative incidence of silkworm diseases in Karnataka, India.

Aperçu de l'incidence relative des maladies du ver à soie au Karnataka en Inde.

SAMSON M. V., BAIG M., SHARMA S. D., JOLLY M. S. *et al.*

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

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol 29(2), 248-254. (E,f)

Egg productivity of parent silkworms for "Akebono" (N 5.6 × C 5.6) reared on artificial diets.
Productivité en oeufs des vers à soie parentaux de l'hybride "Akebono" (N 5.6 × C 5.6) élevés sur des aliments artificiels.

SASAHARA S., NIINO T., NOJIRI K.

1991 *Acta Seric. Entomol.*, Vol. 4, 1-8. (J)

Performance of bivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. as influenced by mulberry varieties in high altitude.

Influence des variétés de mûriers adaptés aux altitudes élevées sur le rendement des souches bivoltines du ver à soie *Bombyx mori*.

SATYANARAYANA RAJU Ch., CHANDRASHEKARAI AH, VENUGOPALA PILLAI S.

Regional Sericultural Research Station, Coonoor-643 101, India.

1990 *Indian Journal of Seric.*, Vol. 29(2), 162-167. (E,f)

Vacuum drying of silkworm cocoons : Drying time under heating by extreme-infrared ray heaters placed above and under the bed of cocoons.

Séchage sous vide des cocons de vers à soie : temps de séchage à chaud à l'aide de radiateurs à infrarouge puissants placés en-dessous et au-dessus des claies des cocons.

SEO Y., MORISHIMA H., MIYAZAWA T., MIYAUCHI M.

Tokyo Univ., Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Journal of the Japanese Society of Agric., Machinery*, Vol. 50(5), 97-101. (J)

Experimental grazing of the 5th-instar silkworm larvae in mulberry field with the dropping mulberry (*Morus alba* var. *pendula* DIPPEL), cultivated for rearing bed.

Élevage expérimental des larves de ver à soie au 5ème âge en plein champs sur des mûriers pleureurs (*Morus alba* var. *Pendula* DIPPEL).

SHIKATA M.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 150-152. (J)

Protein A coated latex-linked antisera test for the detection of the densovirus of the silkworm, *Bombyx mori*.

Test par antisérums liés au latex recouvert de protéine A pour la détection du virus de la denso-nucléose chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SHIMIZU S., TAUCHI S., ARAKAWA A.

1991 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 57, 124. (E)

Nuclear polyhedrosis virus isolated from mulberry silkworm, *Bombyx mori* in Thailand.
Nuclear polyhedrosis virus khong nonmai *Bombyx mori* thiphop nai prathet thai.

Virus de la polyédrose nucléaire isolé chez le ver à soie *Bombyx mori*, en Thaïlande.

TIPVADEE ATTATHOM, NEUNGPANICH SINCHASRI.

Kasetsart Univ., Faculty of Agric., Dept. of Entomology, Bangkok, Thailand.

1988 Journal of the National Research Council of Thailand, Vol. 20(2), 59-68. (Th)

A study on "Duomeijing" a muscardine-preventing powder for silkworm.

Etude de "Duomeijing", une poudre utilisée contre la muscardine du ver à soie.

WANG J., XIA Y., FU F-L., PAN W-R., XIAO N-K.

Element & Organic Chemistry Research Institute of Nankai Univ., Tianjin 300071, China.

1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 14-18. (C, e)

Survey of *Diplosis mori* Yokoyama with bags.

Examen de *Diplosis mori* Yokoyama.

XU X-F. *et al.*

1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 52. (C)

Evaluation of mulberry branch powder as feed ingredient for the development of an artificial diet for the silkworm, *Bombyx mori*.

Evaluation de la poudre de branches de mûrier comme ingrédient alimentaire pour la production d'un aliment artificiel pour le ver à soie *Bombyx mori*.

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

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

1991 Bull. Natl. Inst. Seric. Sci., Vol. 2, 113-130. (J,e)

Development of a low-cost artificial diet - Development of an artificial diet by applying a linear programming method for polyphagous strains of the silkworm, *Bombyx mori*.

Développement d'un aliment artificiel à bas prix - Développement d'un aliment artificiel en appliquant un programme linéaire pour les souches polyphages du ver à soie *Bombyx mori*.

YANAGAWA H., WATANABE K., SUZUKI K.

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

1991 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., no. 3, 57-75. (J,e)

Study of the feed efficiency for sericulture. B - The feed efficiency for cocoon layer of hybrids.

Etude de l'efficacité du nourrissage en sériciculture. B - Efficacité du nourrissage chez les hybrides.

ZHONG S., LIN J., PAN X.

South China Agric. University, Guangzhou, Dept. of Sericulture, China.

1989 Guangdong Sericultural Newsletter, Vol. 3, 35-38. (C)

Air pollution of SO₂ or CO₂ harms silkworm.

La pollution par le SO₂ ou le CO₂ nuit au ver à soie.

ZHOU W. *et al.*

1991 Canye Kexue, Vol. 17(1), 57. (C).

Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Studies on the antibacterial substances of *Philosamia cynthia ricini* induced by gamma-radiation and *Escherichia coli*.

Etudes sur les substances anti-bactériennes chez *Philosamia cynthia ricini* induites par irradiation gamma et par *Escherichia coli*.

DAI Z., ZHANG S.

Nanjing Normal Univ., Dept. of Biology, China.

1989 *Acta Entomologica Sinica*, Vol. 32(3), 271-277. (C)

Effect of refrigeration on hatching of eggs of the tasar silk moth *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

Effet de la réfrigération sur l'éclosion des oeufs du papillon tasar *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

DASH A. K., NAYAK B. K.

State Sericultural Research Station Orissa, Baripada, India.

1989 *The Journal of research on the Lepidoptera*, Vol. 27(3/4), 263-265. (E)

Effect of variable doses of permethrin on *Heliothis zea* (Lepidoptera : Noctuidae) growth and development.

Effet des doses variables de perméthrine sur la croissance et le développement d'*Heliothis zea* (Lepidoptera : Noctuidae).

FOLLETT P. A.

North Carolina State University, Raleigh, NC.

1990 *Journal of Entomological Science*, Vol. 25(3), 357-365. (E)

Enhancement of economic traits of eri silkworm *Samia cynthia ricini* Boisduval by chloral hydrate.

Accentuation des caractères économiques du ver à soie eri *Samia cynthia ricini* Boisduval par l'usage d'hydrochlorure.

GOVINDAN R., MAGADUM S. B., KRISHNA B. G., MAGADUM V. B.

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Dharwad 580 005, India.

1989 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 23(4), 509-511. (E)

Latency characteristics of tussock moths (Lepidoptera : Lymantriidae)

Caractéristiques de la latence des papillons tussock (Lepidoptera : Lymantriidae).

JENSEN T.S.

University of Aarhus, Aarhus, Denmark.

1989 *General Technical Report NE, Agric. Forest Service*, Vol. 123, 155-169. (E)

Increase yield by releasing univoltine pernyi silkworms in autumn.

Augmentation du rendement en libérant des vers à soie pernyi monovoltins en automne.

JIANG C., WANG J., SHI R.

Shandong Provincial Inst. of Silkworm., Jinan, China.

1989 *Journal of Shandong Agric. Sciences*, Vol 2 (38-39), (C)

The fate of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in *B. thuringiensis* var. *israelensis*-killed pupae of *Aedes aegypti*.

Destin de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* dans les chrysalides d'*Aedes aegypti* tuées par *B. thuringiensis*.

KHAWALED K., BEN-DOV E., ZARITSKY A., BARAK Z.

University of the Negev, Beer Sheva, Israel.

1990 *Journal of invertebrate pathology*, Vol. 56(3), 312-316. (E)

Life tables of the *Lymantriidae* with particular reference to *Lymantria obfuscata* in Kashmir.

Données biologiques sur les *Lymantriidae* et plus particulièrement sur *Lymantria obfuscata* au Cachemire.

MILLS N. J.

CAB. International Institute of Biol. Control, European Station, De Lemont, Suisse.

1988 *General Technical Report*, N 123, 143-154. (E)

Study on a continuous cell line infected with nuclear polyhedrosis virus from eri silkworm.

Etude d'une lignée cellulaire du ver à soie eri infectée par le virus de la polyédrose nucléaire.

PENG J.-X. *et al.*

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 48. (C)

Development and silk yield of eri silkworm *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae) as influenced by the food plants.

Développement et rendement en soie du ver à soie eri *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae) en fonction de la plante nourricière.

REDDY D. N. R., KOTIKAL Y. K., VIJAYENDRA M.

Dept. of Sericulture, University of Agric. Sciences, G. K. V. K., Bangalore 560 065, India.

1989 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 23(4), 506-508. (E)

Changes in free amino acids in the haemolymph of pebrine infected larvae and pupae of *Antheraea mylitta* D.

Altérations des taux d'acides aminés libres dans l'hémolymph des larves et chrysalides d'*Antheraea mylitta* D. infectées par la pébrine.

SINHA A. K., SINHA U. S. P., SINHA S. S., SENGUPTA K.

Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi 5, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 233-239. (E,f)

Preliminary studies on the extraction of chitin from pupal skin of Chinese oak silkworm.

Etudes préliminaires sur l'extraction de chitine à partir du tégument nymphal du ver à soie du chêne chinois.

SU X.-R. *et al.*

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 51. (C)

Karyotype of synaptonemal complex in eri silkworm (*Philosamia cynthia ricini*).

Caryotype du complexe synaptonemal chez le ver à soie *Philosamia cynthia ricini*.

WANG Y., SHI L.

Anhui Agricultural Coll., Hefei, China.

1990 *Journal of Anhui Agric. College*, Vol. 17(2), 146-148. (C)

New status on overwintering of *Pieris rapae* L. (China).

Nouvelles données sur l'hivernation de *Pieris rapae* L. (Chine)

ZHANG SHAOLIANG., XU SHOUWAN., YE CHAOHUI.

Ningbo Municipality Inst. of Agric. Sciences, Zhejiang. China.

1991 *Insects Knowledge*, Vol. 26 (3), 137-138. (C)

Application of sequential sampling technique to control *Bombyx mandarina*.

Application de la technique séquentielle d'échantillonnage pour contrôler *Bombyx mandarina*.

ZHENG M. *et al.*

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 53. (C)

Vers à soie : génétique

Silkworm : genetics

Chromosomal fragment responsible for genetic mosaicism in larval body marking of the silkworm, *Bombyx mori*.

Fragment chromosomique responsable du caractère mosaïque du marquage larvaire du ver à soie *Bombyx mori*.

FUJIWARA H., NINAKI O., KOBAYASHI M., KUSUDA J., MAEKAWA H.

Dept. Tech. Vir. Ricketts. Nat. Inst. of Health, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141, Japan.

1991 *Genet. Res. Camb.*, Vol. 57, 11-16. (E)

Synergistic interactions of silkworm chorion promoter-binding factors.

Interactions synergiques des facteurs se fixant au promoteur du gène du chorion chez le papillon.

IATROU K. *et al.*

Dept. of Medical Biochem., Univ. of Calgary, 3330 Hospital Drive, N.W. Alberta, Canada.

1991 *Molecular and Cellular Biology*, Vol. 11(2), 1954-1964. (E)

Breeding of new polyphagous silkworm stocks for low-cost artificial diet.

Sélection de nouveaux vers à soie polyphages pour l'aliment artificiel à faible coût.

KANDA T., TAMURA T.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, no. 3, 17-30. (J, e)

The silkworm *Bombyx mori*.

Le ver à soie *Bombyx mori*.

KLIMENKO V. V.

Ukrainian Sericultural Research Institute, Merefa, Kharkov region, 312060, USSR.

1990 *In Animal Spec. for Develop. Studies*, Plenum Press, Vol. 1, invert., 231-251. (E)

Multiple regression analysis for some quantitative traits in C. Nichi and NB18 breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. and selected populations of their crosses.

Analyse de régression multiple de certains caractères quantitatifs chez les souches C. Nichi et NB18 du ver à soie *Bombyx mori* L. et chez des populations sélectionnées provenant de leur croisement.

KRISHNA B. G., GOVINDAN R., GOWDA M. V. C.

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

1990 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 24(1), 83-85. (E)

Studies on gene transfer by template-active chromatin in silkworm *Bombyx mori*.

Etudes sur le transfert de gène par la chromatine modèle active chez le ver à soie *Bombyx mori*.

LI Z., WU Q., WANG W.

Chinese Univ. of Science and Technology, Hefei, Dept. of Biology, China.

1989 *Acta entomologica sinica*, Vol. 32(1), 1-5. (C)

***Attacus ricini* chromosomal DNA fragments active as prokaryotic promoters in *Escherichia coli*.**

Des fragments d'ADN chromosomiques d'*Attacus ricini* agissant comme des promoteurs prokaryotiques chez *Escherichia coli*.

LIU X., SHEN L.

Academia Sinica, Shanghai Institute of Biochemistry, Shanghai, China.

1988 *Acta Genetica Sinica*, Vol. 15(2), 102-110. (C)

Synaptonemal complex karyotyping of silkworm, *Bombyx mori*.

Caryotype du complexe synaptonémal chez le ver à soie *Bombyx mori*.

MA K., SHI L.

Academia Sinica, Kunming Inst. of Zoology, China.

1988 *Acta Genetica Sinica*, Vol. 15(5), 355-361. (C)

Breeding of sex-limited larval marking silkworm race, N147 × C145.

Elevage de N147 × C145, race de vers à soie à marquage larvaire sexuel.

MANO Y., OHYANAGI M., NAGAYASU K-I., MURAKAMI A.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 2, 1-29. (J,e)

Studies on the inheritance of the resistance to isoprocarb in the silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes de l'hérédité de la résistance du ver à soie *Bombyx mori* à l'isoprocarbe.

MEI L-J.

Cadre Institute of Rural Economic Management, Zhejiang Province, Hangzhou 310029, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 19-23. (C, e)

Effect of heterosis on interlineal intrabreed and interbreed crosses of the silkworm (*Bombyx mori* L.).

Effet de l'hétérosis sur les croisements entre lignées d'une même race ou de races différentes chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

MLADENOV G.

Experimental Station of Sericulture, Vratsa.

1990 *Animal Science*, Vol. 27(8), 104. (B, e)

Etude de la structure et de l'expression de trois gènes d'actine chez *Bombyx mori*.

Study of the structure and expression of three actin genes in *Bombyx mori*.

MOUNIER N.

Univ. Cl. Bernard Lyon I, Ctre Génét. Mol. & Cell., 43 Bd du 11/11/1918, Villeurbanne, France.

1991 *Thèse*, N91-92, 70 p, publications jointes. (F)

Studies on some genetic aspects of quantitative characters in tropical silkworm, *Bombyx mori* L.

Etudes sur certains aspects génétiques des caractères quantitatifs chez le ver à soie tropical *Bombyx mori* L.

NAGARAJU J.

Central Seric Research and Training Institute, Mysore, India.

1990 *Thèse for the award of Ph. D. degree of zoology*. 227 p. (E)

Analysis of heterosis for some quantitative traits in Silkworm, *Bombyx mori* L.

Analyse de l'hétérosis pour certains caractères quantitatifs chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

SATENAHALLI S. B., GOVINDAN R., GOUD J. V.

Dept. of Sericulture, Coll. of Agriculture, Univ. of Agric. Sci., Dharwad 580 005, India.

1990 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 24(2), 214-221. (E)

Chromosome numbers of two non-mulberry silkworms of north-east India.

Numération chromosomique chez deux vers à soie non-mûrier du nord-est de l'Inde.

SENGUPTA K., DAS S. K.

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore 742 101, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 293-294. (E)

Organization and expression of the immunoresponsive lysozyme gene in the giant silk moth, *Hyalophora cecropia*.

Organisation et expression du gène du lysozyme de réponse immunitaire chez le papillon géant *Hyalophora cecropia*.

SUN S.-C., ASLING B., FAYE I.

Department of Microbiology, University of Stockholm, S-106 91 Stockholm, Sweden.

1991 *The Journal of Biological Chem.*, Vol. 266(10), 6644-6649. (E)

Studies on the heredity and breeding of number of eggs laid in silkworm (*Bombyx mori* L.) II. Combining ability and breeding of number of eggs laid.

Etudes sur l'hérédité et la sélection du caractère "nombre d'œufs pondus" chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) II. Capacité combinatoire et sélection pour le caractère "nombre d'œufs pondus".

XUE W., WU Y.

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, Inst. of Sericulture, China.

1989 *Hereditas*, n6, 21-24. (C)

Sequences far downstream from the classical tRNA promoter elements bind RNA polymerase III transcription factors.

Des séquences situées loin en aval des éléments du promoteur d'ARNt classique fixent les facteurs de transcription de l'ARN-polymérase III.

YOUNG L.S., RIVIER D. H., SPRAGUE K. U.

Inst. of Mol. Biol. & Dept. of Biol. & Chem., Univ. of Oregon, Eugene, Oregon 97403, USA.

1991 *Molecular and Cellular Biology*, Vol. 11(3), 1382-1392. (E)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Immunolocalization of prophenoloxidase among hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*.
Localisation immunologique de la prophénoloxidase parmi les hémocytes du ver à soie *Bombyx mori*.
ASHIDA M., OCHIAI M., NIKI T.
Biochem. Lab., Institute Low Temperature Sci., Hokkaido Univ., Sapporo, Japan.
1988 Tissue and Cell, Vol. 20(4), 599-610. (E)

Changes in the activity of dopa quinone imine conversion factor during the development of *Bombyx mori*.
Variation dans l'activité du facteur de conversion de la dopa quinonimine au cours du développement de *Bombyx mori*.
ASO Y., NAKASHIMA K., YAMASAKI N.
Dept. of Agricultural Chem., Fac. of Agric., Kyushu Univ., Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.
1990 Insect Biochem., Vol. 20(7), 685-689. (E)

Mating capacity of male moths of pure breeds and hybrids in silkworm *Bombyx mori* L.
Capacité d'accouplement des papillons mâles des souches pures et hybrides chez le vers à soie *Bombyx mori* L.
BENCHAMIN K. V., MAGADUM S. B., SHIVASHANKAR N.
Silkworm Physiology Lab., Central Seric. Research & Training Inst., Mysore 570 008, India.
1990 Indian Journal Seric., Vol. 29(2), 182-187. (E,f)

Activation of juvenile hormone synthesis *in vitro* by larval brains of *Galleria mellonella*.
Activation de la synthèse d'hormone juvénile *in vitro* par les cerveaux des larves de *Galleria mellonella*.
BOGUS M. I., SCHELLER K.
Dept. of Invertebrate Physiol., Inst. of Zool., Warsaw University, Warszawa, Poland.
1991 Zool. Jb. Physiol., Vol. 95, 197-208. (E)

A novel class of binding proteins in the antennae of the silk moth *Antheraea pernyi*.
Une nouvelle catégorie de protéines de liaison dans les antennes du papillon *Antheraea pernyi*.
BREER H., KRIEGER J., RAMING K.
Univ. Stuttgart-Hohenheim, Inst. for Zoophysiol., Garbenstr. 30, 7000 Stuttgart, Allemagne.
1990 Insect. Biochem., Vol. 20(7), 735-740. (E)

Primary structure of alanyl-tRNA synthetase and the regulation of its mRNA levels in *Bombyx mori*.

Structure primaire de l'alanyl-tRNA synthétase et la régulation de ses taux d'ARNm chez *Bombyx mori*.

CHANG P. K., DIGNAM J. D.

Dept. of Biochem., Univ. of Mississippi Medical Center, Jackson, Mississippi 39216-4505.

1990 *The Journal of Biological Chem., USA*, Vol. 265(34), 20898-20906. (E)

The electrical and mechanical properties of the proleg retractor muscle of the Chinese oak silkworm larva.

Les propriétés mécanique et électrique des muscles des fausses pattes des larves du papillon du chêne chinois.

COX S.C.

Department of Zoology, University of Bristol, Bristol, UK.

1989 *Physiological Entomology*, Vol. 14(3), 265-272. (E)

Isolation and properties of two allelic chymotrypsin inhibitors from the hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et propriétés de deux inhibiteurs alléliques de la chymotrypsine de l'hémolymph du ver à soie *Bombyx mori*.

DENG L.-R., FUJII H., ARATAKE H., KAWAGUCHI Y., KOGA K.

Lab. of Seric. & Inst. of Genet. Res., Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(5), 531-536. (E)

The metamorphosis of insect proteins.

La métamorphose des protéines d'insectes.

DODET B.

1990 *Biofutur*, N 93, 43-48. (F)

NAD+kinase in the development of a silkworm, *Bombyx mori* L.

La kinase NAD+ dans le développement du ver à soie *Bombyx mori* L.

FILIPPOVICH S.Y., AFANASIEVA T. P., KRITSKY M. S.

U.S.S.R. Academy of Sciences, Moscow, U.S.S.R.

1990 *Insect Biochemistry*, Vol. 20(2), 99-104. (E)

Heat sensitivity and protein synthesis during heat-shock in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Sensibilité à la chaleur et synthèse protéique lors d'un choc thermique chez le ver du tabac *Manduca sexta*.

FITTINGHOFF C. M., RIDDIFORD L. M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA.

1990 *J. Comp. Physiol. B.*, Vol. 160, 349-356. (E)

Purification, characterization and developmental changes in the titer of a new larval serum protein of the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification, caractérisation et variations au cours du développement d'une nouvelle protéine du sérum larvaire chez le ver à soie *Bombyx mori*.

FUJIWARA Y., YAMASHITA O.

Lab. of Seric. Science, School of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464-01, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(7), 751-759. (E)

Quantitative change of free sugars during the larval and pupal development of the silkworm, *Bombyx mori* ; Sorbitol accumulation in young larva and pupal ovary.

Variations quantitatives des sucres libres au cours du développement larvaire et nymphal du ver à soie *Bombyx mori* ; accumulation de sorbitol chez les jeunes larves et les ovaires nymphales.

FURUSAWA T., YANG W.-J.

Département of Applied Biology, Tokyo, Japan.

1990 *Bul. of the Faculty of Textile Science*, Vol. 15, 11-20. (J,e)

Hormonal regulation of epidermal metamorphosis *in vitro* : control of expression of a larval-specific cuticle gene.

Régulation hormonale de la métamorphose de l'épiderme *in vitro* : contrôle de l'expression d'un gène de la cuticule spécifique du stade larvaire.

HIRUMA K., HARDIE J., RIDDIFORD L. M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, Washington 98195, USA.

1991 *Developmental Biology*, Vol. 144, 369-378. (E)

Changes of haemolymph ecdysteroid titers in various trimoltings of *Bombyx mori* during the 3rd and 4th instars.

Variation du titre des ecdystéroïdes de l'hémolymph dans divers trimuants de *Bombyx mori* au cours des 3ème et 4ème âges.

HONG S., YOSHIMITSU I., KAWASAKI H.

Institute of Zoology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan 11529, Taiwan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 112-116. (J,e)

Developmental profile and tissue localization of the protease responsible for vitellin degradation in the silkworm, *Bombyx mori*.

Evolution au cours du développement et localisation tissulaire de la protéase responsable de la dégradation de la vitelline chez le ver à soie *Bombyx mori*.

IKEDA M., YAGINUMA T., YAMASHITA O.

Lab. of Seric. Sci., Fac. of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya, 464-01, Japan.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 178-185. (E)

pH-effect on esterase A4 activation by chilling *in vitro*.

Effet du pH sur l'activation de l'estérase A4 par congélation *in vitro*.

KAI H., MIWA T., DOI S., KAWAI T.

Tottori Univ. Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 57(6), 531-532. (E)

The time-measuring steep elevation of esterase A4 activity is caused by a non-cascade mechanism (in silkworm eggs).

L'élévation rapide de l'activité de l'estérase A4 est causée par un mécanisme de non cascade dans les oeufs du ver à soie.

KAI H., NAKANO M., HIROHATA Y., KAWAI T.

Tottori Univ., Faculty of Agric. Japan.

1991 *Journal of the Fac. of Agric.*, Vol. 24, 1-6. (E)

Haemagglutinating activity of haemolymph of *Bombyx mori* treated with terpenoid imidazole.

Activité hémagglutinique de l'hémolymph de *Bombyx mori* traitée avec de l'imidazole terpénoïde.

KATO Y., NAKAMURA T., TAKEUCHI T.

Tezukayama Coll., Nara 631. & Fac. of Textile Sci., Kyoto Inst., Sakyo-ku Kyoyo 606, Japan

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 208-213. (E)

Studies on the wing disc morphogenesis according to the *Bombyx* metamorphosis (Silkworms).
Etudes sur la morphogénèse du disque alaire au cours de la métamorphose du ver à soie *Bombyx mori*.
KAWASAKI H.

Utsunomiya Univ., Coll. of Agric., Japan.

1991 *Special Bull. of the Coll. of Agric.*, n 50, 1-53. (J)

Cognate chitinoproteins are detected during *Drosophila melanogaster* development and in cell cultures from different insect species.

Protéines chitineuses analogues détectées au cours du développement de *Drosophila melanogaster* et dans les cultures de cellules provenant de différentes espèces d'insectes.

KRAMEROV A. A., ROZOVSKY Y. M., BAIKOVA N. A., GVOZDEV V. A.

Inst. of Mol. Genet., USSR Acad. of Sciences, Kurchatov Sq., 46, Moscow 123 182, USSR.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(8), 769-775. (E)

Effect of anti juvenile hormones and related compounds on development in the larvae of (silkworm) *Bombyx mori*.

Effet des anti-hormones juvéniles et des dérivés sur le développement de la larve du ver à soie *Bombyx mori*.

KUWANO E., TANAKA Y., KIKUCHI M., ETO M.

Kyushu Univ., Fukuoka. Faculty of Agriculture, Japan.

1988 *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu Univ.*, Vol. 33(1-2), 17-28. (E)

Identification and molecular analysis of storage proteins from *Heliothis virescens*.

Identification et analyse moléculaire des protéines de stockage provenant d'*Heliothis virescens*.

LECLERC R. F., MILLER S. G.

Insect Attractants, Behavior & Basic Biology Research Lab., ARS, USA, Gainesville.

1990 *Archive of Insect Biochem.*, Vol. 14(3), 131-150. (E)

Effect of several factors on the alkaline phosphatase in the midgut of silkworm, *Bombyx*.

Effet de plusieurs facteurs sur la phosphatase alcaline de l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx*.

LIAO Y.

Zhejiang Agricultural Univ., Hangzhou, Dept. of Sericultural, China.

1989 *Acta Sericologica Sinica*, Vol. 15(4), 207-211. (C)

Studies on the protein metabolism of cassava-silkworm (*Philosamia cynthia*) from fifth instar to pupation stage (China).

Etudes sur le métabolisme des protéines chez le ver à soie *Philosamia cynthia*, du 5ème âge au stade nymphale (Chine).

LIU J., WEI B., QU T.

Guangxi Agricultural Coll., Nanning, China, Dept. of Horticulture, China.

1989 *Journal of Guangxi Agricultural College*, Vol. 8(4), 51-54. (C)

Histology of brain neurosecretory cells in *Bombyx mori*.

Histologie des cellules neurosécrétrices du cerveau chez *Bombyx mori*.

LUO Q; XU F-M., SHEN W-D., ZHENG J., YIN Z-F., PENG P-J.

Suzhou School of Sericulture, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 29-32. (C,e)

The effect of melanisation and reddish coloration hormone on the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de la mélanisation et de l'hormone de coloration rougeâtre sur le ver à soie *Bombyx mori*.

MASE K., MATSUMOTO S., KIGUCHI K.

1991 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 60(3), 186-191. (J, e)

Structure and expression of mRNA for a pupal cuticle protein of the silkworm, *Bombyx mori*.
Structure et expression de l'ARNm pour une protéine de cuticule nymphale chez le ver à soie *Bombyx mori*.

NAKATO H., TORIYAMA M., IZUMI S., TOMINO S.

Dept. of Biology, Tokyo Metropolitan Univ., Setagaya-Ku, Tokyo 158, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(7), 667-678. (E)

Induction of spinning from the eternal 5th instar larva of *Bombyx mori* treated with insect growth regulator by ecdysterone administration.

Induction du filage par l'ecdystérone au cours du 5ème stade interminable de larves de *Bombyx mori* traitées avec un régulateur de croissance d'insecte.

OYAMA C.

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

1988 *Gunma Journal of Agriculture Research, Series B, Sericulture*, Vol. 5, 29-32. (J)

Developmental expression, synthesis and secretion of insecticyanin by the epidermis of the Tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Expression, synthèse et sécrétion d'insecticyanine dans l'épiderme du ver du tabac *Manduca sexta* au cours du développement.

RIDDIFORD L. M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, Washington, USA.

1990 *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, Vol. 14, 171-190. (E)

Morphological features of the sensory organs in relation to feeding response on artificial diet in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Caractéristiques morphologiques des organes sensoriels en rapport avec le nourrissage sur aliment artificiel chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

SADIQ K. M.

Industries and Sericulture Dept., Muzaffarabad, Azad Jammu and Kashmir, Pakistan.

1990 *Pakistan Journal of Forestry*, Vol. 40(2), 173-177. (E)

Effect of environmental temperature on the body temperature and respiratory intensity of silkworm, *Bombyx mori*, reared on artificial diet.

Effet de la température extérieure sur la température du corps et la capacité respiratoire du ver à soie *Bombyx mori* élevé sur aliment artificiel.

SHEN W., HAMANO K., MUKAIYAMA F.

Suzhou Inst. of Sericulture, Jiangsu, China.

1989 *Acta Entomologica sinica*, Vol. 32(1), 12-16. (C)

Phototaxis of the larvae of *Bombyx mori*.

Phototaxie des larves de *Bombyx mori*.

SHIMIZU I.

Faculty of Science, Kyoto University, Sakyouku, Kyoto 606, Japan.

1991 *Journal Seric. Sci. Japan*, Vol. 60(2), 91-96. (J)

Acid and alkaline phosphatase activity during embryonic developement of *Antheraea mylitta* D.

Activité des phosphatases alcaline et acide au cours du développement embryonnaire d'*Antheraea mylitta* D.

SINHA A. K., SINHA U. S. P., SRIVASTAVA P. P., SINHA S. S. et al.

Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 289-290. (E)

Juvenile hormone esterase activity in the haemolymph of the last instar larvae of *Bombyx mori*.
Activité hormone juvénile-estérase dans l'hémolymph des larves de *Bombyx mori* au dernier stade.
SOHN H. D.

Donga Univ., Pusan, Dept. of Sericulture, Korea.

1989 *Korean Journal of Entomology*, Vol. 19(4), 281-290. (K)

Juvenile hormone and "retinoic acid" receptors in *Manduca* epidermis.

Les récepteurs de l'hormone juvénile et de l'"acide rétinoïque" dans l'épiderme de *Manduca*.

SUBRA REDDY PALLI, RIDDIFORD L. M., HIRUMA K.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA.

1991 *Insect Biochem.*, Vol. 21(1), 7-15. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworm : eggs, embryology

Effect of refrigeration on hatching of eggs of the tasar silk moth *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

Effet de la réfrigération sur l'éclosion des oeufs du papillon tasar *Antheraea mylitta* Drury (Saturniidae).

DASH A. K., NAYAK B. K.

State Sericultural Research Station, Orissa, Baripada, India.

1989 *The Journal of Research on the Lepidoptera*, Vol. 27(3/4), 263-265. (E)

Experiments on breaking diapause of the eggs produced by parent silkworms for hybridization reared on artificial diets.

Expériences sur la rupture de diapause chez les oeufs de vers à soie parentaux élevés sur aliment artificiel pour l'obtention d'hybrides.

FUJIEDA T., KUWABARA N.

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

1988 *Gunma Journal of Agriculture Research, Series B, Sericulture*, Vol. 5, 17-20. (J)

Purification and characterization of proteases responsible for vitellin degradation of the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation des protéases responsables de la dégradation de la vitelline du ver à soie *Bombyx mori*.

IKEDA M., SASAKI T., YAMASHITA O.

Lab. of Seric. Lab. of Food Sci. & Tech., Fac. of Agric. Nagoya Univ., Nagoya 464-01, Japan.

1990 *Insect Biochem.*, Vol. 20(7), 725-734. (E)

Microinjection method for DNA in early embryos of the silkworm, *Bombyx mori*, using air-pressure.

Méthode de microinjection d'ADN dans les embryons précoces du ver à soie *Bombyx mori* utilisant l'air sous pression.

KANDA T., TAMURA T.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 2, 31-46. (J,e)

Isolation and complete amino acid sequences of eclosion hormones of the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et séquence complète d'acides aminés des hormones d'éclosion du ver à soie *Bombyx mori*.
KONO T., NAGASAWA H., ISOGAI A., FUGO H., SUZUKI A.

Dept. of Agric. Chemistry, Fac. of Agric., Univ. of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.
1991 *Insect Biochem.*, Vol. 21(2), 185-195. (E)

Valutazione della resistenza alle basse temperature delle uova dei Lepidopteri Ficitidi *Ephestia kuehniella* (Zell.) *Ephestia cautella* Wlk., *Plodia interpunctella* (Hbn.) e del *Piralide Corcyra cephalonica* (Staiton).

Evaluation of the low temperatures resistance of the following lepidopteran eggs: *Ephestia kuehniella* and *cautella*, *Plodia interpunctella* and *Piral Corcyra cephalonica*.

LOCATELLI D. P., PAPALE G., DAOLIO E.

Istituto di Entomol. Agraria, Università degli Studi, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italy.

1990 *Boll. Zool. Agraria & Bachicoltura, Serie II*, Vol. 22(1), 17-30. (I,e)

Artificial hatching of silkworm eggs after chilling.

Éclosion artificielle des oeufs de vers à soie après réfrigération.

MUSLIN M. M.

Punjab Forestry Research Inst., Faisalabad, Pakistan.

1990 *Pakistan Journal of Forestry*, Vol. 40(2), 167-171. (E)

Synthesis and secretion of egg-specific protein from follicle cells of the silkworm, *Bombyx mori*.

Synthèse et sécrétion de la protéine spécifique de l'oeuf provenant des cellules folliculaires du ver à soie *Bombyx mori*.

SATO Y., YAMASHITA O.

Lab. of Seric. Science, School of Agric., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464 01, Japan.

1991 *Insect Biochem.*, Vol. 21(2), 233-238. (E)

Studies on the effects of post mating refrigeration 5 °C on the female moths of silkworm, *Bombyx mori* L.

Études sur les effets de la réfrigération à 5 °C des papillons femelles du ver à soie *Bombyx mori* L après accouplement.

SATYANARAYANA RAJU Ch., THIAGARAJAN V., VEMANANDA REDDY G. *et al.*

Central Seric. Res. & Training Inst., Srirampuram, Manandavadi Road, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 213-218. (E,f)

Preservation method of genetic stocks of the silkworm (*Bombyx mori*) : conditions of ovary freezing, thawing and parthenogenetic activation.

Méthode de conservation des stocks génétiques du ver à soie *Bombyx mori* : conditions de congélation, de décongélation et d'activation parthénogénétique des ovaires.

SHINBO H., KITAZAWA T., IMANISHI S., KIGUCHI K., MURAKAMI A.

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

1991 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 2, 47-63. (J,e)

Studies on the hormone regulation in egg forming mechanism of the silkworm, *Bombyx mori*. I. Effects of JHA and MH on egg forming of the silkworm.

Études de la régulation hormonale au cours du processus de formation de l'oeuf du ver à soie *Bombyx mori*. I Effets d'analogues de l'hormone juvénile et de l'hormone de mue sur la formation de l'oeuf du ver à soie.

ZHANG J-Y., HUANG L-Q.

Department of Sericulture, Anhui Agricultural College, Hefei 230000, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 24-28. (C,e)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Negative supercoiling of DNA facilitates an interaction between transcription factor IID and the fibroin gene promoter.

Le superenroulement négatif de l'ADN facilite une interaction entre le facteur de transcription IID et le promoteur du gène de la fibroïne.

MIZUTANI M., OHTA T., WATANABE H., HANDA H., HIROSE S.

DNA Research Center, National Institute of Genetics., Mishima 411, Japan.

1991 *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, Vol. 88, 718-722. (E)

Expression of a cytoplasmic actin gene in relation to the silk production cycle in the silk glands of *Bombyx mori*.

Expression d'un gène d'actine cytoplasmique en relation avec la production de soie dans les glandes séricigènes de *Bombyx mori*.

MOUNIER N., COULON M., PRUDHOMME J.-C.

Univ. Cl. Bernard Lyon I, Ctre Génét. Mol. & Cel., 43 Bd du 11/11/18, 69622 Villeurbanne, France.

1991 *Insect Biochem.*, Vol. 21(3), 293-301. (E)

Carbaryl effects on total amino acid content in haemolymph and posterior silk gland of the silkworm *Bombyx mori* L. (PM × NB₄D₂).

Effets du carbaryl sur le contenu en acides aminés de l'hémolymph et du sécréteur de la glande séricigène du ver à soie *Bombyx mori* L. (PM × NB₄D₂).

VENKATA REDDY S., SIVARAMI REDDY N., RAMAMMURTHI R.

C.S.R. & T.I. Manandavadi Road, Srirampuram, Mysore 570 008, India.

1990 *Indian Journal Seric.*, Vol. 29(2), 300-303. (E)

Effect of juvenile hormone and ecdysone on absorption of the marked precursors of nucleic acid and protein in the silkworm posterior silk gland *in vitro*.

Effet de l'hormone juvénile et de l'ecdysone sur l'absorption *in vitro* des précurseurs marqués des protéines et des acides nucléiques par le sécréteur de la glande séricigène du ver à soie.

WU Z.-D., XU J.-L.

Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(1), 39-44. (C,e)

Soie

Silk

Studies on the sorption and permeation of acid dyes through silk fibroin membrane. 1) The structure of silk fiber and fibroin membrane.

Etudes sur la rétention et la perméabilité des colorants acides filtrés à travers une membrane de fibroïne de soie. 1) Structure de la fibre de soie et de la membrane de fibroïne.

BAE D. G., TAK T. M.

1988 *Han'guk Chamsa Hakhocchi* 30(2) 105-111. (A)

Enzymatic properties of lipase immobilized on silk fibroin membrane and its membrane potential with the enzyme reaction.

Propriétés enzymatiques d'une lipase immobilisée sur une membrane de fibroïne et potentiel de membrane obtenu avec la réaction enzymatique.

DEMURA M., KOMURA T., HIRAIDE T., ASAKURA T.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(9), 391-396. (J)

Molecular mechanism of spider silk elasticity.

Mécanisme moléculaire de l'élasticité de la soie d'araignée.

DONG Z. Y., LEWIS R. V., MIDDAUGH C. R.

1991 *Arch. Biochem Biophys.*, Vol. 284, 53. (E)

Molecular cleavage of silk fibroin by an aqueous solution of lithium thiocyanate.

Coupage moléculaire de la fibroïne par une solution aqueuse de thiocyanate de lithium.

GOTO Y., TSUKADA M.

Nat. Inst. of Seric. & Entomol. Science, Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 402-409. (J,e)

Estimation of reelability percentage. I-Estimation based on the number of unexpected dropping ends of N cocoons.

Estimation du pourcentage de dévidabilité. I-Estimation basée sur le nombre de bouts libres chez N cocons.

GUOLIANG SHOU.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 6-13. (J,e)

Estimation of reelability percentage. II-Estimation based on the number of non-broken filaments of N cocoons.

Estimation du pourcentage de dévidabilité. II-Estimation basée sur le nombre de filaments non cassés chez N cocons.

GUOLIANG SHOU.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 13-22. (J,e)

Physical properties of silk sericin expected from cocoon shells of silkworm varieties with different values of sericin solubility.

Propriétés physiques attendues de sérécines tirées de cocons de vers à soie ayant des taux différents de solubilité de la sérécine.

HAGA A., TUKADA M., YASUMURA S., AOKI H.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 23-27. (J,e)

Gelation of silk fibroin.

Gélification de la fibroïne de soie.

HIRABAYASHI K., AYUB Z. H., KUME Y.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(11), 521-524. (E)

Heat stability of catalase immobilized on silk fibroin by freezing.

Thermorésistance de la catalase immobilisée sur la fibroïne de soie par congélation.

HIRAIDE S.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 490-491. (J)

Size distribution and constitution of neps in the silk card silver from *Bombyx mori*.

Distribution de la taille et constitution de bouchons dans la soie cardée *Bombyx mori*.

IMAI T., TSUBOUCHI K.

1990 *The Journal Seric. Science Japan*, Vol. 59(5), 355-359. (J,e)

Effect of chitosan treatment on color fastness properties of silk fabrics dyed with various dyes in a neutral dyebath.

Effet du traitement au chitosan sur la vitesse de coloration des tissus de soie teints avec divers colorants dans un bain de teinture neutre.

KAKO T., KATAYAMA A.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 66-68. (J)

Wearing test for silk-knitted fabrics treated by salt-shrinking, dispersion of fibers and resin-curing.

Test de résistance des tissus de soie tricotés soumis à la rétraction par le sel, à la dispersion des fibres et aux traitements à la résine.

KATO H.

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

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 438-442. (J,e)

Studies on the development of silk twisted yarns for knitted fabric. (IV) Physical properties of silk yarns treated by salt-shrinking, dispersion of fibers and resin-curing.

Etudes sur le développement des fils de soie tordus pour les tissus tricotés. (IV) Propriétés physiques des fils de soie soumis à la rétraction par le sel, à la dispersion des fibres et aux traitements à la résine.

KATO H.

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

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 429-437. (J,e)

Studies on the development of silk twisted yarns for knitted fabric. (VI) Structural changes of the silk yarn subjected to salt-shrinking dispersion of fibers and resin-curing.

Etudes sur le développement des fils de soie tordus pour les tissus tricotés. (VI) Changements structuraux des fils de soie soumis à la rétraction par les sels, à la dispersion des fibres et au traitement à la résine.

KATO T.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 60(1), 34-47. (J,e)

Study of heat yellowing and brittleness of real silk fabric.

Etude du jaunissement et de la fragilité d'un tissu de soie traité par la chaleur.

LEE M.

1990 *Fangzhi Xuebao*, Vol. 11(4), 148-151. (C)

Effects of some fixatives on sericin fixation of raw silk.

Effets de certains fixateurs sur la fixation de la sérécine de la soie grège.

LEE Y. W., SONG K. E., CHUNG I. M., LEE K. G.

Rural Development Administration, Sericultural Experiment Station, Suwon, Korea.

1990 *The Research Reports of the Rural Development Administ.*, Vol. 32(1), 68-73. (K)

Effect of solvent component on mechanical properties of silk fibroin membrane.

Effet d'un dissolvant sur les propriétés mécaniques d'une membrane de fibroïne de soie.

LIANG C. X., HIRABAYASHI K.

1990 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 46(5), 181-185. (J)

Studies on the factors affecting tensile strength and breaking elongation of raw silk.

Etudes sur les facteurs affectant l'élasticité et la résistance à la traction de la soie grège.

LIU D.-K., YE X.-Y., WU S.-C.

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

1990 *Canye Kexue*, Vol. 16(4), 225-229. (C,e)

Dyeing of silk containing sericin fixed by dialdehyde starch.

Teinture de la soie contenant de la sérécine fixée par dialdéhyde d'amidon.

MASAHIRO YANO., KOUZO YASUDA.

1991 *Bull. of Research Inst. for Polymers & Textiles*, Vol. 164, 1-8. (J,e)

Fotodegradazione della seta tinta con coloranti acidi./ Photodegradation of dyed silk with acid dyes.

Photodégradation de la soie teinte avec des colorants acides.

MASSAFRA M. R., COLONNA G. M., BIANCHI SVILOS A.

Stazione Sperimentale per la Seta, Milano.

1990 *La Seta*, Vol. 43(2), 5-8. (I,e,f)

Fitting models to the movement of the orifice in the spinning of silkworms.

Modèles de mouvement de l'orifice de filage des vers à soie.

MIURA M., NISHIOKA T., SUGIURA A., SHIMAZAKI A.

Faculty of Textile Science, Shishu University, Tokida, Ueda 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 421-428. (E)

Small angle X-ray scattering of native silk fibroin in a silk gland and of dilute aqueous solution of silk fibroin.

Balayage par des rayon-X sous faible incidence de la fibroïne native dans la glande sérécigène et dans une solution aqueuse.

NAGURA M., HIRAGI Y., KAJIWARA K., TSUKADA M.

Faculty of Textile Sci. & Tech., Shinshu Univ., Ueda, Nagano 386, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 59(6), 475-479. (J,e)

pH and hardness effects on sericin solubility result from total carbonate concentration.

Les effets du pH et de la dureté sur la solubilité de la sérécine proviennent de la concentration totale en carbonate.

NAM Y. R., CHAE D. S., SUNG J. C.

1989 *Han'guk Chamsa Hakhoechi*, Vol. 31(2), 121-126. (Co)

Water and its effect on silk reeling.

L'effet de l'eau sur le dévidage de la soie.

SENGUPTA D., PATIL M. G., CHAKRABORTY A.

1989 *News & Views, Quarterly Bull. of CSR & Tl., Berhampore, Vol. 4(2).* (E)

Activity of water in raw silk threads in relation to rereeling agents.

Activité de l'eau sur les fils de soie grège en fonction des agents utilisés pour le reflottage.

SHIGEMATSU M.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture & Tech., Koganei, Tokyo 184, Japan.

1990 *J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 59(6), 410-415.* (J,e)

Proposal for the improvement of silk rereeling machines ventilation.

Proposition pour l'amélioration de la ventilation des machines de reflottage de la soie.

SHIGEMATSU M.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60(1), 69-71.* (J)

Results of the trial production of rewinding agents.

Résultats d'essais de production d'agents de rebobinage.

SHIGEMATSU M.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60 (1), 72-74.* (J)

Physical properties of byssus of *Atrina pectinata japonica*.

Propriétés physiques du byssus d'*Atrina pectinata japonica*.

TSUKADA M., GOTO T., ISHIKAWA H.

1991 *The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 60(1), 1-6.* (E)

Structure of a protein superfiber : spider dragline silk.

Structure d'une "super" fibre protéique : la soie d'araignée.

XU M., LEWIS R.

1990 *P.N.A.S., Vol. 87, 7120-7124.* (E)

Extraction of L-serine and serinol from waste liquor of boiled silkworm cocoons.

Extraction de L-sérine et de sérinol à partir du liquide de cuisson des cocons de ver à soie.

ZHANG C., YANG Z.

1990 *Huaxue Shijie, Vol. 31(4), 185-187.* (C)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

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

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

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

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "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 x 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

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

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

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

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

* * *