

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

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

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

B. MAUCHAMP
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION **EDITORIAL BOARD**

AKAPANTHU S. (Thaïlande / *Thailand*)
BOSQUET G. (France)
CAPPELLOZZA L. (Italie / *Italy*)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / *India*)
DAS B.C. (Inde / *India*)
DATTA R.K. (Inde / *India*)
DOIRA H. (Japon / *Japan*)
FONSECA T.C. (Brésil / *Brazil*)
FREDDI G. (Italie / *Italy*)
GOLDSMITH M.R. (USA)
HE K. (Chine / *China*)
HORIE Y. (Japon / *Japan*)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde / *India*)
KOBAYASHI M. (Japon / *Japan*)
LEA H. Z. (Corée / *Korea*)

LEGAY J.-M. (France)
LIU S.-X. (Chine / *China*)
LU H.-S. (Chine / *China*)
MACHII H. (Japon / *Japan*)
MANO Y. (Japon / *Japan*)
MAUCHAMP B. (France)
MIRANDA J. E. (Brésil / *Brazil*)
REALI G. (Italie / *Italy*)
SHIMURA K. (Japon / *Japan*)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / *India*)
SONWALKAR T.N. (Inde / *India*)
TAKEDA S. (Japon / *Japan*)
TAZIMA Y. (Japon / *Japan*)
TRENCZEK T. (Rép. tchèque / *Czech Republic*)
VAGO C. (France)
VEY A. (France)
YAMASHITA O. (Japon / *Japan*)

SOMMAIRE – CONTENTS

Review / Revue

- Impact of demonstrations conducted by Research Extension Centers of CSRTI, Mysore** 113
 Impact des démonstrations réalisées par les Centres de Vulgarisation du CSRTI de Mysore 121
 HIRIYANNA, KUMARESAN P. & VIJAYA PRAKASH N. B.

Scientific papers / Articles scientifiques

- Detection of myrotoxins produced by pathogen in *Myrothecium* leaf spot of mulberry** 127
 Détection des myrotoxines produites par *Myrothecium* le pathogène de la tache de la
 feuille du mûrier 139
 R. MURAKAMI, K. MIYAMOTO, W. MITSUHASHI & S. WADA

- Feeding and moulting behaviour of muga silkworm (*Antheraea assama* Ww.) on different food plants** 145
 Comportement alimentaire et de mue du ver à soie muga (*Antheraea assama* Ww.) sur
 différentes plantes hôtes 153
 R. CHAKRAVORTY, K. NEOG, N. SURYANARAYANA & L. K. HAZARIKA

- Salient genetical features of a polymorphic variant vis-à-vis the prevalent muga silkworm (*Antheraea assama* Ww.)** 157
 Caractéristiques génétiques principales d'un variant polymorphique du ver à soie muga
 (*Antheraea assama* Ww.) 171
 MONICA MUKHOPADHYAY CHAUDHURI

Technical reports / Rapports techniques

- Efficacy of different bed disinfectants against grasserie and flacherie diseases in silkworm *Bombyx mori* L. under temperate climatic condition of Kashmir** 179
 Efficacité de différents désinfectants de litière contre les maladies de la grasserie et de la
 flacherie chez le ver à soie *Bombyx mori* L. dans les conditions climatiques tempérées du
 Cachemire 185
 S. B. ZEYA, HAROON RASHID, MIR NISAR AHMAD & M. A. KHAN

- Breeding of "a new bivoltine breed" for longer filament length and fine denier by utilizing the strain JPN of *Bombyx mori* L.** 189
 Obtention d'une nouvelle lignée bivoltine au filament plus long et au denier fin en utilisant
 la souche JPN de *Bombyx mori* L. 199
 G. V. KALPANA, H. K. BASAVARAJA, N. SURESH KUMAR & A. K. PALIT

- Oak descriptor** 205
 Descripteur du chêne 215
 P. K. SRIVASTAV, N. IBOHAL SINGH & B. R. R. P. SINHA

Antifeedant and insecticidal role of azadirachtin against ash weevil, <i>Myloccerus viridanus</i> Fab. (Coleoptera: Curculionidae), a pest of primary tasar food plants . . .	223
Rôle antiappétent et insecticide de l'azadiractine contre le charençon de la cendre, <i>Myloccerus viridanus</i> Fab. (Coleoptera : Curculionidae), un parasite des plantes hôtes . . .	227
principales du tasar . . .	227
S. P. SHARMA, RAM KISHORE, RAKESH GUPTA B. C., PRASAD & B.R.R.P. SINHA	

Notes brèves / Brief notes

Evaluation of silkworm (<i>Bombyx mori</i> L.) breeds from Iran infected by white muscardine disease incidence . . .	231
Evaluation de lignées du ver à soie (<i>Bombyx mori</i> L.) provenant d'Iran infestées par le champignon de la muscardine blanche . . .	237
A.SEYDAVI, M. GHOLAMI & M. BIABANI	

Effect of plant products and containers on castor seed germination . . .	241
Effet de produits à base de plantes et des récipients sur la germination des graines de ricin . . .	245
RANJANA DAS & K. DAS	

Bibliographie / Bibliography . . .	247
Sériciculture générale / General sericulture . . .	249
Mûrier / Mulberry . . .	253
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology . . .	257
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology . . .	261
Vers à soie : génétique / Silkworms : genetics . . .	263
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms : physiology, biochemistry . . .	267
Vers à soie : œufs, embryologie / Silkworms : eggs, embryology . . .	273
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms : silk glands . . .	275
Soie / Silk . . .	275

IMPACT OF DEMONSTRATIONS CONDUCTED BY RESEARCH EXTENSION CENTERS OF CSRTI, MYSORE

HIRIYANNA, KUMARESAN P. & VIJAYA PRAKASH N. B.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore – 570 008, Karnataka, India

The objective of the study is to analyze the impact of technologies demonstrated with the farmers and the problems in adoption of technologies by the sericulturists. The study revealed 11.32 % to 23.78 % yield improvement in mulberry and 40.50 % to 64.12 % in cocoon production due to the demonstrations conducted by Research Extension Centres (RECs). Among the technologies demonstrated, disinfection with bleaching powder was adopted well by majority of the farmers and disinfection with chlorine dioxide, bed and silkworm body disinfectant (vijetha) and integrated pest management of uzifly were partially adopted by the majority of the farmers. Garden for young age silkworm larvae, vermi-composting, azatobactor application triacontonol spray, integrated pest management of mealy bug, shoot rearing and wrap-up method of young age silkworm rearing were not accepted by majority of the farmers.

Keywords: Adoption, constraints, demonstration, knowledge, Research Extension Center.

INTRODUCTION

Demonstrations (result and method) are important teaching methods in extension to show the farmers the value of important practices. Considering the importance of demonstrations, Central Silk Board introduced a programme during 1998 to conduct group demonstration of improved sericulture technologies through Research Extension Centres (RECs) and Sub-units of RECs for improving the yield levels of the farmers. As per the programme, each REC conducted 5 group demonstrations per year covering 100 farmers at the rate of 20 farmers per group. The improved technologies were demonstrated with the lead farmer identified for each group. The other participant farmers were expected to observe the results of technologies demonstrated and practice them for their yield improvement. The farmers whose average yield was not more than 35 kg /100 dfls were selected for group demonstrations with the target of reaching their yield level to 50 kg /100 dfls at the end of the programme. Considering the guidelines given by Central Silk Board, RECs of Central Sericultural Research and Training Institute (CSRTI), Mysore initiated the group demonstration programme during 1998-99 with the proven mulberry cultivation and silkworm rearing practices as a package.

The extension staff of RECs expressed some constraints in popularizing some technologies through demonstrations in the review meetings conducted by the Director, CSRTI, Mysore. In this context, a comprehensive study has been taken up to analyze the impact of technologies demonstrated with the farmers on yield improvement and crop stability and the problems in adoption of technologies by the sericulturists with the following specific objectives:

- To study the improvement in knowledge and adoption of technologies by the farmers due to group demonstrations;
- To estimate the yield improvement due to adoption of the technologies demonstrated; and
- To study the problems/constraints in adoption of technologies demonstrated.

METHODOLOGY

The group demonstrations have been conducted in eight RECs and seven Sub-units of RECs in 3 major sericulture states namely Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu. Out of which, REC, Madivala in Karnataka, Rayachoty in Andhra Pradesh and Krishnagiri in Tamil Nadu were purposively selected for the study. The staffs involved in group demonstrations and 50 randomly selected farmers were interviewed with pre-designed interview schedule in each REC. Thus, the total sample size constituted 150 farmers. The information regarding the details of socio-economic conditions, level of inputs used, knowledge level of different technologies, adoption rate of technologies and problems in adoption of technologies were collected from the farmers. The collected data were tabulated and subjected to percentage and tabular analyses.

RESULTS AND DISCUSSION

Under the group demonstration programme, RECs demonstrated the important mulberry cultivation technologies developed by CSRTI, Mysore during last decade of twentieth century namely, maintenance of separate mulberry garden for young age silkworm larvae, vermi-composting, application of azatobacter, triacontonal spray and integrated pest management (IPM) of mealy bug and silkworm rearing technologies namely, wrap-up method of chawki rearing, disinfection with bleaching powder and chlorine dioxide, application of Vijetha (bed and silkworm body disinfectant), IPM of uzifly and use of raksha rekha (insecticide to control predators such as ants and cockroach inside silkworm rearing houses) as a package along with other regular practices. The impact of the demonstrations in each REC was studied and the results are discussed here under.

Impact of demonstrations:

The results of mulberry and cocoon yield improvement due to the adoption of technologies demonstrated by RECs are presented in Table I. The farmers of REC, Rayachoty could improve the mulberry yield from 9135.20 kg/acre/year to 11307.20 kg/acre/year registering an improvement of 23.78% in yield levels. Similarly, the improvement in mulberry yield was 13.85% in REC, Madivala and 11.32% in REC Krishnagiri. The improvement in cocoon yield due to the adoption of technologies was significant in all the three RECs. REC, Rayachoty farmers realized 64.12% improvement in cocoon yield followed by 41.67 % by the farmers of REC Madivala and 40.50% by the farmers of REC Krishnagiri. The results clearly reveal that there was a significant improvement in mulberry and cocoon yield levels due to the adoption of technologies demonstrated to the farmers and the technical guidance provided to the farmers by the REC staff.

Knowledge level of sample farmers on technologies:

Table II gives the details of knowledge level of sample farmers on technologies demonstrated by RECs Madivala, Rayachoty and Krishnagiri. The knowledge level of the sample farmers on mulberry garden for young age silkworm larvae, vermi-composting, triacontonal spray and wrap-up method of young age silkworm larvae was very poor. The knowledge level of the farmers on azatobacter, IPM of mealy bug, IPM of uzifly and raksha rekha was partial. On the other hand, the knowledge level on shoot rearing, disinfection with bleaching powder and chlorine dioxide and vijetha were very good with the majority of the farmers.

Adoption pattern of technologies:

The adoption pattern of technologies demonstrated by REC Madivala, Rayachoty and Krishnagiri is shown in Table III. The adoption rate of mulberry garden for young age silkworm larvae, vermi-composting, triacontonal spray, wrap-up method of young age silkworm larvae and raksha rekha was very less with the majority of the farmers. The technology adoption was partial for

application of azatobacter, IPM of mealy bug, disinfection with chlorine dioxide, vijetha and IPM of uzifly. The disinfection with bleaching powder was adopted by the majority of the farmers in all the RECs. The adoption rate of shoot rearing was comparatively more in REC Madivala but not popular in other two RECs.

Table I. Impact of group demonstrations conducted by RECs.

Tableau I. Impact de démonstrations de groupe réalisées par les RECs.

SI No	Name of the Centre	Yield / Rendement		Improvement (%)
No. de série	Nom du Centre	Before demonstration <i>Avant la démonstration</i>	After demonstration <i>Après la démonstration</i>	% d'amélioration
I	Mulberry yield (kg/acre*) <i>Rendement en mûriers (kg / acre*)</i>			
1	REC, Madivala	11664.00	13279.20	13.85
2	REC, Rayachoty	9135.20	11307.20	23.78
3	REC, Krishnagiri	7159.35	7630.01	11.32
II	Cocoon yield (kg/100 dfls) <i>Rendement en cocons</i> <i>(kg / 100 pontes saines)</i>			
1	REC, Madivala	38.49	54.53	41.67
2	REC, Rayachoty	33.75	55.39	64.12
3	REC, Krishnagiri	33.76	47.43	40.50

* Acre = 0.40 hectare.

Constraints in adoption of technologies

The constraints expressed by the farmers in adoption of different technologies were documented and given below:

Maintenance of mulberry garden for young age silkworm larvae:

The young age silkworm requires succulent leaf for which a separate garden for young age silkworm larvae with specific package of practices is recommended. However, as majority of the farmers in REC Madivala area obtained young age silkworm larvae from Young age silkworm Rearing Centres, they did not maintain separate mulberry garden for young age silkworm larve. The major reason given by the farmers of REC Rayachoty for not owning separate garden was preference of traditional practice of using the leaf of late age garden for young age silkworm rearing. They also felt that the maintenance of separate garden for young age silkworm larvae was a cumbersome practice. The farmers of REC Krishnagiri expressed that they did not have extra land to maintain a separate garden for young age silkworm larvae.

Table II. Knowledge level of sample farmers on technologies demonstrated by REC, Madivala, Rayachoty and Krishnagiri.

Tableau II. Niveau de connaissance des fermiers sur les technologies présentées par le REC de Madivala, Rayachoty et Krishnagiri.

Particulars Caracteristiques	REC, Madivala			REC, Rayachoty			REC, Krishnagiri		
	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre
Mulberry garden for young age silkworm larvae <i>Muraie pour les jeunes larves de vers à soie</i>	14.00	30.00	56.00	12.00	70.00	18.00	0.00	25.00	75.00
Vermi composting / <i>Vermi compost</i>	0.00	62.00	38.00	0.00	52.00	48.00	0.00	7.69	92.31
Azotobacter application <i>Application d'Azotobacter</i>	56.00	30.00	14.00	30.00	66.00	4.00	1.92	30.77	67.31
Triacetonol spray <i>Vaporisation de triacetonol</i>	28.00	42.00	30.00	6.00	46.00	48.00	0.00	1.92	98.08
IPM of mealy bug <i>IPM de la cochenille</i>	0.00	100.00	0.00	0.00	96.00	4.00	0.00	100.00	0.00
Shoot rearing <i>Elevage sur rameaux</i>	100.00	0.00	0.00	62.00	38.00	0.00	100.00	0.00	0.00
Disinfection with bleaching powder <i>Désinfection avec de la chaux</i>	84.00	10.00	6.00	94.00	6.00	0.00	61.54	36.54	1.92
Disinfection with Chlorine dioxide <i>Désinfection avec du dioxyde de chlore</i>	28.00	52.00	20.00	52.00	44.00	4.00	50.00	42.31	7.69
Wrap-up method of young age silkworm rearing <i>Méthode d'enveloppement pour l'élevage du jeune âge</i>	4.00	18.00	78.00	4.00	22.00	74.00	28.85	0.00	71.15
Vijetha <i>IPM of uzifly</i>	62.00	38.00	0.00	94.00	6.00	0.00	61.54	38.46	0.00
IPM of uzifly <i>IPM de la mouche uzi</i>	0.00	100.00	0.00	0.00	96.00	4.00	0.00	100.00	0.00
Raksha rekha	20.00	50.00	30.00	6.00	50.00	44.00	100.00	0.00	0.00

(Figures are in %) / Les chiffres sont en %.

Table III. Adoption pattern of technologies demonstrated by REC, Madivala, Rayachoty and Krishnagiri

Tableau III. Schéma d'adoption des technologies présentées par les REC de Madivala, de Rayachoty et de Krishnagiri.

Particulars Caractéristiques	REC, Madivala			REC, Rayachoty			REC, Krishnagiri		
	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre	Full Entier	Partial Partiel	No Nbre
Mulberry garden for young age silkworm larvae <i>Mûraie pour les jeunes larves de vers à soie</i>	0.00	32.00	68.00	0.00	8.00	92.00	0.00	21.15	78.85
Vermi composting <i>Vermi-compost</i>	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00
Azotobacter application <i>Application d'Azotobacter</i>	4.00	62.00	34.00	0.00	72.00	28.00	3.85	23.08	73.08
Triacetonol spray <i>Vaporisation de triacetonol</i>	0.00	22.00	78.00	0.00	2.00	98.00	0.00	3.85	96.15
IPM of mealy bug <i>IPM de la cochenille</i>	0.00	64.00	36.00	0.00	78.00	22.00	0.00	26.92	73.08
Shoot rearing <i>Élevage sur rameaux</i>	24.00	40.00	36.00	0.00	2.00	98.00	1.92	3.85	94.23
Disinfection with bleaching powder <i>Désinfection avec de la chaux</i>	76.00	24.00	0.00	68.00	32.00	0.00	44.23	48.08	7.69
Disinfection with Chlorine dioxide <i>Désinfection avec du dioxyde de chlore</i>	12.00	54.00	34.00	0.00	72.00	28.00	11.54	40.38	48.08
Wrap-up method of young age silkworm rearing <i>Méthode d'enveloppement pour l'élevage des jeunes vers à soie</i>	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	28.85	0.00	71.15
Vijetha	16.00	62.00	22.00	18.00	78.00	4.00	0.00	65.38	34.62
IPM of uzifly <i>IPM de la mouche uzi</i>	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00
Raksha rekha	2.00	4.00	94.00	0.00	2.00	98.00	5.77	0.00	94.23

(Figures are in %)

Vermi-composting:

A huge amount of wastes such as silkworm litter, left over leaf and shoots are generated in silkworm rearing. By composting the sericultural wastes using earthworms, they can be effectively recycled as compost for mulberry garden. Hence, vermi-composting was demonstrated to the farmers by RECs. But the adoption rate of this technology was low with the farmers in all the RECs. The farmers of REC Madivala and Rayachoty expressed that vermi-composting was a cumbersome and more labour intensive technology. On the other hand, availability of sufficient quantity of farmyard manure did not force the farmers of Krishnagiri to adopt the vermi-composting technology. The farmers of REC Rayachoty also expressed non-availability of earthworms in sufficient quantity as one of the major reasons for not adopting the technology.

Application of azatobactor and triacontanol spray:

Azatobactor is a bacterial bio-fertilizer, which saves the application of 30 % of the chemical Nitrogenous fertilizer. On the other hand, triacontanol is a growth promoter for mulberry to improve the leaf quality and yield. The major reason expressed by the farmers for not adopting azatobacter and triacontanol spray was not realizing the benefit of the technology.

IPM of mealy bug:

Mealy bug is an important pest, which causes mulberry yield loss up to 20 %. Integrated management practices of manual clipping of the pest affected portions of mulberry plant, release of bio-control agents in the field and chemical spray were demonstrated for the effective control of the pest. However, majority of the farmers felt that using the chemicals spray was not economical for controlling the mealy bug incidence in mulberry garden.

Shoot rearing:

Shoot rearing is one of labour saving methods in silkworm rearing. Besides, it reduces the chances of contamination in the rearing, as the silkworm larvae are handled less in this method. But as shoot rearing requires more space in the rearing house, it was not adopted by the majority of the farmers in all the three RECs.

Disinfection with bleaching powder and chlorine dioxide:

Disinfection of bleaching powder was adopted well by majority of the farmers in all the RECs. However, the farmers had the opinion that bleaching powder was corrosive and injurious to health. Majority of the farmers did not prefer the alternative disinfectant, chlorine dioxide, as the chemical was expensive compared to bleaching powder.

Wrap-up method of young age silkworm rearing:

Wrap-up method of young age silkworm rearing was not popular with the farmers as majority of the farmers were not aware about the method and preferred traditional practice of young age silkworm rearing.

Vijetha:

Vijetha is a bed disinfectant to prevent infection of diseases on silkworm at the time of rearing. Vijetha was either fully or partially adopted by all the farmers. However, the farmers expressed that Vijetha was expensive. The farmers of REC, Kolar preferred other chemicals as a bed-disinfectant instead of Vijetha, as different bed disinfectant chemicals were available in the area.

IPM of uzifly:

Uzifly is a major pest causing a considerable yield loss in the silkworm rearing. The integrated practices, which include mechanical control of using nylon net to prevent the entry of uzifly,

bio-control agents to parasitize uzi larva and uzitrap to attract and kill the flies were demonstrated to control the uzifly. The farmers felt that the traditional practice of using nylon net and wire mesh was effective for controlling the uzi fly. About 60 % of the farmers expressed that uzitrap was not effective in controlling the uzifly.

Raksha rekha:

Raksha rekha is a chemical recommended to prevent ant attack on silkworm larvae. However, above 80% of the farmers in all the RECs used alternative practices of using grease, turmeric powder, BHC and DDT powder in place of raksha rekha for controlling ants in silkworm rearing houses and 90% of the respondents of REC Rayachoty opined that raksha rekha was injurious to the silkworm.

SUMMARY AND CONCLUSION

The objective of the study is to analyze the impact of technologies demonstrated with the farmers and the problems in adoption of technologies by the sericulturists. The data were collected from the randomly selected 50 farmers participated in the group demonstrations in each REC, Madivala, Rayachoty and Krishnagiri.

The results revealed that there was a significant yield improvement in mulberry as well as cocoon production and reduction in crop losses due to the demonstrations conducted by RECs. This methodology may be advocated for motivating the farmers to adopt improved sericultural technologies in the areas, where the sericulturists are available in cluster.

Among the technologies demonstrated, disinfection with bleaching powder was accepted well by majority of the farmers. Disinfection with chlorine dioxide, vijetha and IPM of uzifly were practiced but not as per the recommendation by the majority of the farmers. Mulberry garden for young age silkworm, vermi-composting, azatobactor application, triacontonol spray, IPM of mealy bug, shoot rearing, wrap-up method and raksha rekha were not accepted by majority of the farmers due to various technological, economical and social constraints.

Many of the eco-friendly cost-saving improved practices such as application of azatobactor and vermi-composting were not accepted well by the farmers. Participatory research may be conducted with the farmers for refining the technologies to suit to the needs of the farmers. One of the major constraints expressed by the farmers for non-adoption of technologies was non-availability of inputs at village level to practice the technologies. Hence, the input delivery system may be strengthened for timely supply of the quality inputs to the farmers.

IMPACT DES DEMONSTRATIONS REALISEES PAR LES CENTRES DE VULGARISATION DU CSRTI DE MYSORE

HIRIYANNA, KUMARESAN P. & VIJAYA PRAKASH N. B.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore – 570 008, Karnataka, Inde.

*L'objectif de l'étude est d'analyser l'impact des technologies présentées aux fermiers et les problèmes d'adoption des technologies par les sériciculteurs. L'étude montre une amélioration du rendement en mûrier de 11,32 % à 23,78 % et de la production en cocons de 40,50 % à 64,12 % grâce aux démonstrations réalisées par les Centres de Vulgarisation de la Recherche (REC). Parmi les technologies présentées, la désinfection avec la chaux a été bien adoptée par la majorité des fermiers et la désinfection avec du dioxyde de chlore, les désinfectants de litière et des vers à soie (vijetha) et le programme de gestion intégrée du parasite de la mouche uzi sont partiellement adaptées par la majorité des fermiers. Par contre, la mûraie pour les jeunes larves de ver à soie, le vermi-compost, l'application d'*Azotobacter*, la vaporisation de triacontanol, la gestion intégrée du parasite de la cochenille, l'élevage sur rameaux et la méthode d'élevage d'enveloppement des jeunes vers à soie ne sont pas acceptées par la majorité des fermiers.*

INTRODUCTION

Les démonstrations (résultats et méthodes) sont des méthodes d'enseignement importantes pour montrer aux fermiers la valeur de pratiques importantes. Compte tenu de l'importance des démonstrations, le *Central Silk Board* a introduit un programme en 1998 pour réaliser une démonstration de groupe des technologies d'amélioration de la sériciculture par les Centres de Vulgarisation de la Recherche (REC) et les Sous-Unités des REC pour améliorer les niveaux de rendement des fermiers. D'après le programme chaque REC réalise 5 démonstrations de groupe par année couvrant 100 fermiers au taux de 20 fermiers par groupe. On fait une démonstration des technologies avec le fermier leader identifié pour chaque groupe. On attend des autres fermiers qu'ils observent les résultats apportés par les technologies présentées et les appliquent pour améliorer leur rendement. Les fermiers dont le rendement moyen est inférieur à 35 kg de cocons / 100 pontes saines sont sélectionnés pour les démonstrations de groupe dans le but qu'ils atteignent un niveau de rendement de 50 kg / 100 pontes saines à la fin du programme. Compte tenu des lignes directrices données par le *Central Silk Board*, les REC du *Central Sericultural Research and Training Institute* (CSRTI), de Mysore ont commencé le programme de démonstration de groupe en 1998-99 avec les pratiques d'élevage du ver à soie et de la culture du mûrier qui ont fait leur preuve.

Le personnel de vulgarisation des REC a exprimé quelles étaient les contraintes dans la popularisation de certaines des technologies au cours de présentations dans les réunions d'étude réalisées par le Directeur du CSRTI de Mysore. Dans ce contexte, nous avons entrepris une étude complète pour analyser l'impact des technologies présentées aux fermiers sur l'amélioration du rendement et la stabilité des cultures et les problèmes d'adoption des technologies par les sériciculteurs avec les objectifs spécifiques suivants :

- étudier l'amélioration des connaissances et l'adoption par les fermiers grâce aux démonstrations de groupe
- estimer l'amélioration du rendement grâce à l'adoption des technologies présentées

- étudier les problèmes / contraintes d'adoption des technologies démontrées

METHODOLOGIE

Les démonstrations de groupe ont été réalisées dans huit REC et sept sous-unités des REC dans 3 états séricicoles principaux à savoir le Karnataka, l'Andhra Pradesh et le Tamil Nadu. Parmi eux, le REC de Madivala dans le Karnataka, de Rayachoty dans l'Andhra Pradesh et de Krishnagiri dans le Tamil Nadu sont sélectionnés à dessein pour l'étude. On interview les personnels impliqués dans les démonstrations de groupe et 50 fermiers sélectionnés au hasard avec un formulaire d'interview préconçu dans chaque REC. Ainsi, la taille de l'échantillon est constitué de 150 fermiers. On recueille auprès des fermiers les informations concernant les détails des conditions socio-économiques, le niveau des intrants utilisés, le niveau de connaissance des différentes technologies, le taux d'adoption des technologies et les problèmes d'adoption des différentes technologies. Les données recueillies sont classées et soumises à des analyses.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le cadre du programme de démonstration de groupe, les REC ont présenté les technologies importantes pour la culture du mûrier mises au point par le CSRTI, à Mysore, pendant la dernière décennie du vingtième siècle à savoir, le maintien d'une muraille séparée pour les jeunes larves de ver à soie, le vermi-compostage, l'application d'azotobacter, la vaporisation de triacontanol et un programme de gestion intégrée du parasite (IPM) de la cochenille et les technologies d'élevage du ver à soie, à savoir la méthode de l'élevage chawki (jeunes vers) en enveloppant les vers, la désinfection avec de la chaux et du dioxyde de chlore, l'application de Vijetha (désinfectant de litières et des larves du ver à soie), IPM de la mouche uzi, et utilisation de raksha rekha (insecticide pour lutter contre les prédateurs tels que les fourmis et les cafards à l'intérieur des magnaneries) comme programme avec d'autres pratiques régulières. On a étudié l'impact des démonstrations dans chaque REC et nous en présentons les résultats ci-dessous.

Impact des démonstrations :

Les résultats de l'amélioration du mûrier et du rendement en cocons grâce à l'adoption des technologies démontrées par les REC sont présentées dans le Tableau I. Les fermiers du REC de Rayachoty ont pu faire passer leur rendement en mûriers de 9135, 20 kg / demi hectare / année à 11 307,20 kg / demi hectare / année soit une amélioration de 23,78 % dans les niveaux de rendement. De même, l'amélioration du rendement en mûrier est de 13,85 % dans le REC, de Madivala et de 11,32 % dans le REC de Krishnagiri. L'amélioration du rendement en cocons grâce à l'adoption de technologies est significatif dans les trois REC. Les fermiers du REC de Rayachoty ont réalisé une amélioration du rendement en cocons de 64,12 % suivi par 41,67 % par les fermiers du REC de Madivala et 40,50 % par les fermiers du REC de Krishnagiri. Les résultats révèlent clairement qu'il y a une amélioration significative des niveaux de rendement en cocons et en mûrier grâce à l'adoption des technologies présentées aux fermiers et à l'assistance technique fournie par le personnel du REC aux fermiers.

Niveau de connaissance des technologies par les fermiers échantillonnés :

Le tableau II présente les détails concernant le niveau de connaissance des technologies montrées par les REC de Madivala, Rayachoty et Krishnagiri des fermiers échantillonnés. Le niveau de connaissance sur les murailles pour les jeunes vers à soie, le vermi-compostage, la vaporisation de triacontanol et la méthode d'enveloppement des jeunes larves de vers à soie est très faible. Le niveau de connaissance des fermiers sur l'*azotobacter*, l'IPM de la cochenille, l'IPM de la mouche uzi et le raksha rekha est partiel. D'autre part, le niveau de connaissance de l'élevage sur rameaux, la

désinfection avec de la chaux et du dioxyde de chlore et du vijetha est très bon chez la plupart des fermiers.

Schéma d'adoption des technologies :

Le schéma d'adoption des technologies démontrées par le REC de Madivala, de Rayachoty et de Krishnagiri est présenté dans le Tableau III. Le taux d'adoption de la mûraie pour les jeunes larves de vers à soie, du vermi-compost, de la vaporisation de triacontanol, de la méthode d'enveloppement des jeunes larves de vers à soie et du raksha rekha est très inférieur pour la majorité des fermiers. L'adoption de la technologie est partielle pour l'application d'azotobacter, l'IPM de la cochenille, la désinfection avec du dioxyde de chlore, du vijetha et l'IPM de la mouche uzi. La désinfection avec de la chaux est adoptée par la majorité des fermiers dans tous les REC. Le taux d'adoption de l'élevage sur rameaux est comparativement plus important dans le REC de Madivala mais il n'est pas populaire dans les autres REC.

Contraintes d'adoption des technologies :

Les contraintes exprimées par les fermiers dans l'adoption des différentes technologies sont présentées ci-dessous :

Maintien de la mûraie pour les jeunes larves de vers à soie :

Le jeune ver à soie a besoin de feuilles succulentes et on recommande une mûraie séparée pour les jeunes larves de vers à soie avec un ensemble spécifique de pratiques. Cependant, une majorité des fermiers dans le REC de Madivala a obtenu des jeunes larves de vers à soie dans les Centres d'Elevage des Jeunes Vers, mais n'entretiennent pas de mûraie séparée pour les jeunes larves de vers à soie. La raison principale que les fermiers du REC de Rayachoty donnent au fait qu'ils ne possèdent pas de mûraie séparée est qu'ils préfèrent la pratique traditionnelle d'utilisation de feuilles de la mûraie pour les derniers âges pour l'élevage des jeunes vers à soie. Ils pensent aussi que l'entretien d'une mûraie séparée pour les jeunes larves de vers à soie est une pratique pesante. Les fermiers du REC de Krishnagiri ont fait remarquer qu'ils n'ont pas de terrain en plus pour entretenir une mûraie séparée pour les jeunes larves de vers à soie.

Vermi-compost :

L'élevage des vers à soie génère une grande quantité de déchets tels que les excréments des vers à soie, le reste des feuilles et des pousses. En compostant les déchets séricicoles on peut les recycler de manière efficace comme compost pour la mûraie. Ainsi, les REC ont présenté le vermi-compost aux fermiers. Mais le taux d'adoption de cette technologie est faible chez les fermiers dans tous les REC. Les fermiers du REC de Madivala et de Rayachoty pensent que le vermi-compost est une technologie pesante et qui demande beaucoup de main d'œuvre. D'autre part, la présence de fumier en quantité suffisante n'incite pas les fermiers de Krishnagiri à adopter la technologie de vermi-compostage. Les fermiers du REC de Rayachoty pensent que l'absence de vers de terre en quantité suffisante est l'une des principales raisons pour laquelle ils n'adoptent pas cette technologie.

Application d'azotobacter et de la vaporisation de triacontanol :

L'*azotobacter* est un engrais biologique bactérien, qui permet d'éviter 30 % d'application d'engrais azoté chimique. D'autre part, le triacontanol est un promoteur de croissance pour le mûrier pour améliorer la qualité de la feuille et le rendement. La principale raison pour laquelle les fermiers n'adoptent pas la vaporisation d'*azotobacter* et de triacontanol est qu'ils ne voient pas l'intérêt de cette technologie.

IPM de la cochenille :

La cochenille est un parasite important, qui entraîne une perte de rendement en mûrier de l'ordre de 20 %. On a présenté les pratiques de gestion intégrée telles que la taille manuelle des parties du plant de mûrier affectées par le parasite, la libération d'agents de lutte biologique sur le terrain et la vaporisation chimique pour la lutte efficace contre le parasite. Cependant, la majorité des fermiers pense que l'utilisation de vaporisations chimiques n'est pas économique pour lutter contre l'incidence de la cochenille dans la mûraie.

Élevage sur rameaux :

L'élevage sur rameaux est l'une des méthodes pour économiser de la main d'œuvre dans l'élevage du ver à soie. De plus, cela diminue les chances de contamination pendant l'élevage puisqu'on manipule moins les larves de vers à soie avec cette méthode. Mais puisque l'élevage sur pousses demande plus d'espace dans la magnanerie, il n'a pas été adopté par la majorité des fermiers dans les trois REC.

Désinfection avec de la chaux et du dioxyde de chlore :

La majorité des fermiers adopte bien la désinfection avec de la chaux dans tous les REC. Cependant, les fermiers pensent que la chaux est corrosive et nuit à la santé. La majorité des fermiers ne préfère pas le désinfectant alternatif, le dioxyde de chlore parce que le produit chimique est cher par comparaison à la chaux.

Méthode d'élevage par l'enveloppement des jeunes larves :

L'élevage des jeunes larves en les enveloppant n'est pas populaire chez les fermiers puisque la majorité des fermiers ne connaît pas cette méthode et préfère la pratique traditionnelle d'élevage des jeunes larves.

Vijetha :

Le vijetha est un désinfectant de litière qui prévient l'infestation du ver à soie par les maladies au moment de l'élevage. Le Vijetha est soit complètement ou partiellement adopté par les fermiers. Cependant, les fermiers pensent que le Vijetha est cher. Les fermiers du REC de Kolar, préfèrent les autres produits chimiques comme désinfectant de litière à la place de Vijetha, puisque d'autres désinfectants chimiques de litières sont disponibles dans la région.

IPM de la mouche uzi :

La mouche uzi est un parasite majeur qui provoque une perte considérable de rendement dans l'élevage du ver à soie. On a présenté les pratiques intégrées qui comprennent la lutte mécanique en utilisant un filet de Nylon pour prévenir l'entrée de la mouche uzi, les agents de lutte biologique pour parasiter les larves uzi et le piège uzi pour attirer et tuer les mouches. Les fermiers pensent que la pratique traditionnelle qui consiste à utiliser un filet de Nylon et un grillage est efficace pour lutter contre la mouche uzi. Environ 60 % des fermiers pensent que le piège contre la mouche uzi n'est pas efficace pour lutter contre la mouche uzi.

Raksha rekha :

Le raksha rekha est un produit chimique recommandé pour prévenir l'attaque des larves du ver à soie par les fourmis. Cependant, environ 80 % des fermiers dans tous les REC utilisent des pratiques alternatives telles que la graisse, la poudre turmerique, la poudre BHC et DDT à la place du raksha rekha pour lutter contre les fourmis dans les magnaneries et 90 % des personnes interrogées du REC de Rayachoty pensent que le raksha rekha est nuisible pour le ver à soie.

RESUME ET CONCLUSION

L'objectif de l'étude était d'analyser l'impact des technologies présentées aux fermiers et les problèmes d'adoption des technologies par les sériciculteurs. Les données ont été recueillies auprès de 50 fermiers sélectionnés au hasard qui ont participé aux démonstrations de groupe dans chaque REC, de Madivala, de Rayachoty et de Krishnagiri.

Les résultats montrent qu'il y a une amélioration significative du rendement en mûrier ainsi que de la production et de la diminution des pertes de cocons grâce aux démonstrations réalisées par les REC. Cette méthodologie pourrait être recommandée pour motiver les fermiers à adopter des technologies séricicoles améliorées dans les zones où les sériciculteurs sont disponibles en groupe.

Parmi les technologies présentées, la désinfection avec de la chaux est bien acceptée par la majorité des fermiers. La désinfection avec du dioxyde de chlorure, du vijetha et l'IPM de la mouche uzi sont pratiqués par la majorité des fermiers mais pas d'après les recommandations. La mûraie pour les jeunes vers, le vermi-compost, l'application d'*azatobacter*, la vaporisation de triacontanol, l'IPM de la cochenille, l'élevage sur rameaux, la méthode d'enveloppement et le raksha rekha ne sont pas acceptés par la majorité des fermiers en raison des technologies variées et des contraintes économiques, sociales et technologiques.

La plupart des pratiques améliorées non nuisibles à l'environnement et économiques telles que l'application d'*azatobacter* et le vermi-compostage ne sont pas bien acceptées par les fermiers. On pourrait réaliser une recherche participative avec les fermiers pour affiner les technologies afin qu'elles conviennent aux besoins des fermiers. Une des principales contraintes en raison de laquelle les fermiers n'adoptent pas les technologies est l'absence des intrants au niveau du village pour mettre en pratique les technologies. Ainsi, il faudrait renforcer le système de livraison des intrants pour la fourniture en temps voulu d'intrants de qualité aux fermiers.

DETECTION OF MYROTOXINS PRODUCED BY PATHOGEN IN *MYROTHECIUM* LEAF SPOT OF MULBERRY

R. MURAKAMI, K. MIYAMOTO, W. MITSUHASHI & S. WADA

National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2, Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

Myrotoxins B and D produced in a culture of Myrothecium roridum strain M9403 were also detected from the diseased mulberry leaves inoculated with the fungus which is the pathogen responsible of the Myrothecium leaf spot of the mulberry. However, the roles of both toxins in the pathogenicity of the fungus were not examined. Therefore, the toxins were detected from mulberry leaves infected with the strain M9403 to examine their roles. Extracts from the central, middle and marginal parts of the lesions of the diseased leaves caused necroses to mulberry leaves. Toxic activity of the extract from the central part of the lesions was the highest among tested activities of extract from different locations. Myrotoxin B was detected from all parts of the lesions by the thin layer chromatography bioassay method, but myrotoxin D was detected only from the central part of them. The peak of myrotoxin B was detected from the mulberry leaves inoculated with the strain M9403 by the high performance chromatography (HPLC) 2 to 20 days after the inoculation. The concentration of myrotoxin B reached the maximum (11.5 ppm) 14 days after the inoculation. On the other hand, the peak of myrotoxin D was detected by HPLC 6 to 16 days after the inoculation, but it remained low during the whole period. These results suggest that myrotoxin B might be the main pathotoxin in the pathogenicity of the strain M9403 and myrotoxin D also may act as a minor kind of pathotoxin of the fungus.

Keywords: *Myrothecium roridum*, *Myrothecium* leaf spot, mulberry, myrotoxin, pathotoxin.

INTRODUCTION

Myrothecium roridum Tode ex Fries causes the leaf spot of mulberry *Morus alba* and *M. bombycis* (Takahashi *et al.*, 1994) and produces macrocyclic trichothecene toxins as mycotoxic metabolites in a culture: primarily myrotoxin B with a small amount of myrotoxin D (Murakami *et al.*, 1999). Trichothecenes are sesquiterpenoid epoxides produced by several genera of fungi Imperfecti such as *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* and *Trichothecium* (Ueno, 1980). Trichothecenes exhibit various biological activities including antifungal (Nespiak *et al.*, 1961), cytotoxic (Ueno, 1980) and phytotoxic effects (Murakami and Shirata, 1998b) by toxic prevention of polypeptide chain elongation in the eukaryotic cells (Ehrlich and Daigle, 1987). Mycotoxins are produced by various phytopathogens. The mycotoxins that play a causal role in the disease are termed pathotoxins. To prove that a mycotoxin is a pathotoxin, it is necessary to isolate or detect the mycotoxin from the lesion (Dickinson and Lucas, 1982). The roles of trichothecenes in the pathogenicity of the fungi producing them are unclear, because it is difficult to detect them from infected plants. However, some trichothecenes produced by *Fusarium* have been detected from the diseased plants by recently developed chemical methods. For example, deoxynivalenol and zearalenone belonging to the trichothecenes have been detected from the diseased plant tissues infected with *F. graminearum* and classified as members of the group of pathotoxin (Desjardins *et al.*,

1989; Hart *et al.*, 1982; Snijardins and Krechting, 1992). But trichothecenes produced by *Myrothecium* have not been detected until now.

Myrothecium roridum causes the leaf spot and the fruit rot diseases of various plants (Charles, 1957; McLean and Sleeth, 1961; Cunfer and Lukezic, 1969; Takano, 1992; Takahashi *et al.*, 1994). Although *M. roridum* produces many kinds of trichothecenes including verrucarins, roritoxins, roridins and others, both pathogen of tomato and pathogen of muskmelon plants produce only myrotoxins A, B, C and D in a culture. These facts suggest that the myrotoxins may play an important role in the pathogenicity of the fungi (Jarvis *et al.*, 1991; Rajak and Sangi, 1989). Furthermore, there are several reports on the trichothecene, roridin E, produced by the pathogen of the muskmelon plant in a culture, inducing a cultivar-specific toxic response in the host plant (Bean *et al.*, 1988; Kuti *et al.*, 1989; Healey *et al.*, 1994; Mackay *et al.*, 1994).

However, whether the trichothecenes are produced by *M. roridum* in host plants is unclear, because there are no reports on the detection of them produced by the fungus in host plant tissues. Therefore, we examined existence of myrotoxins produced by *M. roridum* in the diseased mulberry leaves.

MATERIALS AND METHODS

Mulberry leaves preparation:

Mulberry cultivar "Shin-ichinose" was grown in the mulberry field of the National Institute of Agrobiological Sciences (Tsukuba, Japan). The field was ploughed up to control weeds and the soil was determined to be free from *M. roridum*. Mulberry leaves were harvested at approximately 30 cm below the top of the branches and sterilized with 70% ethanol.

The leaves were punctured with a bundle of 10 needles (punctured part) if needed. Leaves used as inocula were kept at 25°C.

Fungal strain and culture:

Myrothecium roridum strain M9403 was isolated from the mulberry leaves in Kagoshima Pref., Japan (Murakami and Shirata, 1998a) and was cultured on the potato sucrose agar medium (PSA: 2% sucrose, 1.8% agar in 20% potato broth) at 25°C for two weeks.

Purification of Myrotoxins B and D:

Myrotoxins B and D were purified by the method of Murakami *et al.* (1999). The strain M9403 was grown on PSA at 25°C for one month, and myrotoxins B and D were isolated from the culture filtrate using the high performance liquid chromatography (HPLC, LC 10A, Shimadzu, Kyoto).

Assay of total toxic activity of extract from each part in lesions:

Pieces of lesions (3 × 3 mm) formed by inoculation with the strain M9403 on the mulberry leaves were placed on the leaves to form new lesions. The inoculated leaves were incubated at 25°C. Lesions about 3 cm in diameter were formed 10 days after the inoculation. The lesion was divided into three parts: part A was 0 to 5 mm outside the lesion, part B was at the margin of the lesion where hyphae formed and the colour of veins changed from green to brown, and part C was at the centre of the lesion where sporodochia and hyphae formed and the colour of the leaf changed to brown (Fig. 1). To assay toxic activity of extracts from the parts A to C of the lesion, one gram of leaf pieces from each part was soaked in 10 ml of methanol by shaking at 90 rpm for two hours three times, and the resultant extract was evaporated. Then each extract was dissolved with 1 ml of 0.1% methanol. This concentration of the extract solution was defined as 1-fold concentration. The extract was concentrated or diluted with 0.1% of methanol to prepare the extract solutions in 17 different levels of concentration ranging from 2²-fold to 2⁻¹⁴-fold concentration. Then 10 µl of each solution was

dropped onto six punctured parts on the mulberry leaves. Necrosis caused by each solution was examined seven days after the treatments.

Detection of myrotoxins in lesions:

Method for the extraction of myrotoxins from the parts A to C of lesions was the same as that for the assay of total toxic activity of extracts from each part of the lesion. Presence of myrotoxins in the lesion was analysed from 40 μ l of each part extract at 1-fold concentration using the thin layer chromatography (TLC: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Merk, Darmstadt, Germany) in diethyl ether following TLC bioassay method (Murakami and Shirata, 1998a). Conidia of the fungal strain M9401, which was sensitive to mycotoxins produced by *M. roridum*, were sprayed on the TLC plate to detect myrotoxins in the extracts. Area of emerged spots showing antifungal activity to the strain M9401 on the plate were measured two days after the treatments.

Quantification of myrotoxins in developing lesions:

Mulberry leaves were harvested on September 7, 1998 and cut into pieces of 1.5 $\times$ 1.5 cm (leaf pieces). Prior to the conidial inoculation of the strain M9403, conidia were collected from the culture for two weeks incubation and washed with sterilized distilled water three times to avoid contamination of any mycotoxins secreted by the fungus. Two hundred grams of the leaf pieces were soaked in the conidial suspension (5×10^5 conidia/ml). The inoculated leaf pieces were incubated at 25° C and sampled the first day and then every other day after the inoculation for 20 days. Myrotoxins B and D were purified according to the protocol shown in Figure 2. The inoculated leaf pieces were dried (80° C for 8 h) in a windy oven (WFO-450ND, EYELA, Tokyo), pulverized by a mill (MCG-180, Matsubara, Osaka) for three minutes and stored in a desiccator with phosphoric anhydride at 5° C. The pulverized leaf pieces were soaked in 1500 ml of methanol shaking at 90 rpm for one hour and this extraction was repeated three times. To assay toxic activity in each extract, each resultant extract was dried and dissolved with 0.1% of methanol. The resultant fraction solutions (20 μ l, 100 ppm) were dropped onto the punctured parts of mulberry leaves. As a control, 20 μ l of 0.1% of methanol was dropped onto additional punctured parts on the same leaves and they were confirmed not to affect the leaves. Toxic activity was evaluated by the extent of necrosis that emerged on the part within seven days after the application. When an extract with toxic activity was dropped on the leaf, necrosis emerged. The toxic extract was evaporated under reduced pressure to oily residue and the residue was suspended in 400 ml of water. The solution was shaken with 400 ml of ethyl acetate using a 1000 ml separating funnel three times. Ethyl acetate-soluble layers with toxic activity were evaporated, dissolved in 500 μ l of methanol and fractionated using the normal-phase liquid-chromatography (NPLC) on a gravity column (GC) filled with 24 g of Wakogel C-300 (Wako Pure Chemical Industries, Osaka). It was eluted with 120 ml volume of hexane – ethyl acetate (2 : 1, 1 : 1, 1 : 2), ethyl acetate, and ethyl acetate – methanol (5 : 1, 2 : 1). Then each eluted toxic fraction was fractionated by the reversed-phase liquid-chromatography (RPLC) on GC filled with 5 g of Cosmosil 140C₁₈-OPN (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan). It was eluted stepwise with 25 ml of methanol (0 – 100% at 10% intervals). HPLC analysis of each toxic subfraction (20 μ l, 1000 ppm) was conducted with a LC10A solvent delivery system with an ODS-II column (4.6 mm $\times$ 15 cm, Shimadzu Techno-Research, Kyoto) coupled to a SPD-10AV variable wavelength UV/Vis detector set at 260 nm. The toxic compounds were eluted with 50% of aqueous methanol (flow rate at 1 ml/min) at 40° C. To examine the toxic activities of the eluted fractions, they were evaporated, dissolved in 20 μ l of 0.1% methanol and dropped onto the punctured parts on mulberry leaves. The quantification of myrotoxins B and D were made by comparing the peak heights from injected samples with those of authentic standards, which were checked for purity by HPLC. This experiment was replicated three times.

RESULTS

Total toxic activity of each part extract from the lesions:

The extracts from part A (Fig. 1, left) at 2-fold and 2²-fold concentration caused necroses on mulberry leaves, and 2⁻⁵-fold to 2⁻⁷-fold concentration of extracts from part B and 2⁻⁸-fold to 2⁻²-fold concentration of extracts from part C caused necroses (Table 1).

These results showed that toxic substances to mulberry leaves were contained in the lesions and the toxic activity of the extract from the central part of the lesion was the highest among those from the parts of the lesion.

Detection of myrotoxins in the lesions:

By the TLC bioassay method, mycotoxins produced by *M. roridum* were revealed to have antifungal activities. The colour of TLC plates is white and that of hyphae of M9401 is black. Therefore, the colours of the areas of the plates where mycotoxins exist look white and those where they are absent black. However, the colours of the areas where mycotoxins existed were actually yellow-green, because the pigments of the leaf pieces also developed on the plates by this method. Yellow-green spots on the black-coloured plate were detected as indicating the existence of mycotoxins from the diseased leaves.

In the parts A to C (Fig. 1), the yellow-green spots were detected at R_f0.2 on the TLC plate (Fig. 3) and the methanol extracts of silica gel from the spots showed the toxic activity to the mulberry leaves. Since no difference in R_f value was observed between the spots and pure myrotoxin B (R_f0.2), the spots were considered to be identical to those of myrotoxin B.

In the part A, a small spot of myrotoxin B was detected. At the parts B and C, the areas of the spots where myrotoxin B existed were 3.7 mm² and 7.5 mm², respectively. A small spot identical to myrotoxin D (R_f0.3) was detected only in the part C.



Fig. 1. Three parts (A, B and C) sampled from the lesion of the mulberry leaves infected with *Myrothecium roridum* strain M9403.

Fig. 1. Trois parties (A, B et C) prises sur les lésions des feuilles de mûrier infestées par la souche M9403 de *Myrothecium roridum*.

Table 1. Presence of necroses on mulberry leaves caused by extracts from parts A, B and C on the lesion infected with *Myrothecium roridum* M9403.

*Tableau 1. Présence de nécroses sur les feuilles de mûrier provoquées par des extraits des parties A, B et C sur la lésion infestée par *Myrothecium roridum* M9403.*

Concentration (Fold) ^{a)}	A	B	C
2 ²	+ ^{b)}	+++	+++
2	+	++	+++
1	+	++	+++
2 ⁻¹	—	+	++
2 ⁻²	—	+	++
2 ⁻³	—	+	++
2 ⁻⁴	—	+	++
2 ⁻⁵	—	+	++
2 ⁻⁶	—	—	+
2 ⁻⁷	—	—	+
2 ⁻⁸	—	—	+
2 ⁻⁹	—	—	—
2 ⁻¹⁰	—	—	—
2 ⁻¹¹	—	—	—
2 ⁻¹²	—	—	—
2 ⁻¹³	—	—	—
2 ⁻¹⁴	—	—	—

a) Each concentration of the extracts from parts A, B and C (Figure 1) in the lesions caused by *Myrothecium roridum* was defined as 1-fold concentration. The extracts were concentrated (2-fold and 2²-fold) or diluted (2⁻¹-fold to 2⁻¹⁴-fold)

a) Chaque concentration des extraits des parties A, B et C (Figure 1) dans les lésions provoquées par *Myrothecium roridum* est définie comme une concentration un. Les extraits sont concentrés (multiplié par 2 et multiplié par 2²) ou dilués (de multiplié par 2⁻¹ à multiplié par 2⁻¹⁴.)

b) +++ Necrosis was confirmed on all over leaves dropping the extracts. / La nécrose est confirmée sur toutes les feuilles où l'on dépose les extraits.

++ Necrosis was confirmed on around dropping part and dropping part. / La nécrose est confirmée autour et sur la partie de dépôt.

+ Necrosis was confirmed on only dropping part. / La nécrose n'est confirmée que sur la partie de dépôt.

— Necrosis was not confirmed. / La nécrose n'est pas confirmée.

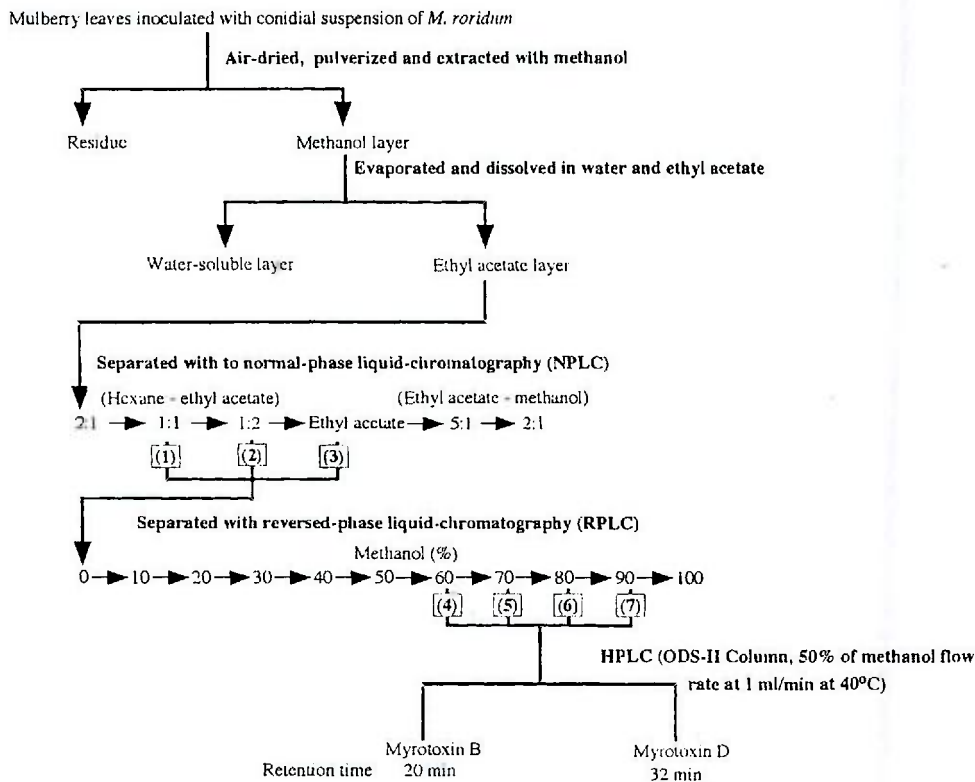


Fig. 2. Procedures of extraction, purification and identification of myrotoxins from the mulberry leaves inoculated with *Myrothecium roridum*.

See the text for details. Codes for each subfraction are shown in parenthesis.

Fig. 2. Procédures d'extraction, de purification et d'identification des myrotoxines sur les feuilles de mûrier inoculées avec *Myrothecium roridum*.

Voir le texte pour les détails. Les codes pour chaque sous-fraction apparaissent entre parenthèses.

Quantification of myrotoxins in the developing lesions:

Myrothecium roridum was isolated from the leaf pieces inoculated with the strain M9403 conidia and necroses emerged on the margin of the pieces by two days after the inoculation (Fig. 4-A). Ten days after the inoculation, necroses emerged on approximately one-thirteen of the pieces and sporodochia of *M. roridum* were formed on the pieces. Twelve, 14 and 16 days after the inoculation, necroses emerged on approximately one-tenth, two-thirds and all of the pieces, respectively.

No subfractions eluted with ethyl acetate-methanol by NPLC exhibited the toxic activity. The fraction with a retention time of 20 min on the chromatogram of HPLC showed a toxic activity to the mulberry leaves, and the peak was identical to that of myrotoxin B (Fig. 5). The toxic activity was exhibited by the subfractions 2 by NPLC and 4 by RPLC from inoculated leaves one day after the

inoculation (Fig. 2). In HPLC examination of the subfraction 4 from the leaves one day after the inoculation, the fraction with a retention time of 20 min showed a toxic activity to the mulberry leaves. The peak of myrotoxin B was detected on HPLC chromatogram of the fractions from the leaves 2 to 20 days after the inoculation. The peak of myrotoxin B was detected from the subfractions 2 and 4 two days after the inoculation and from the subfractions 2 and 3 by NLPC and the subfractions 4 to 7 by RPLC 4 to 20 days after the inoculation. The concentration of myrotoxin B was the highest (11.5 ppm) 14 days after the inoculation, and then decreased ($P < 0.001$ at ANOVA) (Fig. 4-B).

The fraction with a retention time of 32 min also showed a toxic activity and its peak was identical to that of myrotoxin D. The peak of myrotoxin D was detected on HPLC chromatogram of the subfractions 1 by NLPC and 5 by RPLC from the leaves 6 to 16 days after the inoculation. The concentration of myrotoxin D remained low during the while period.

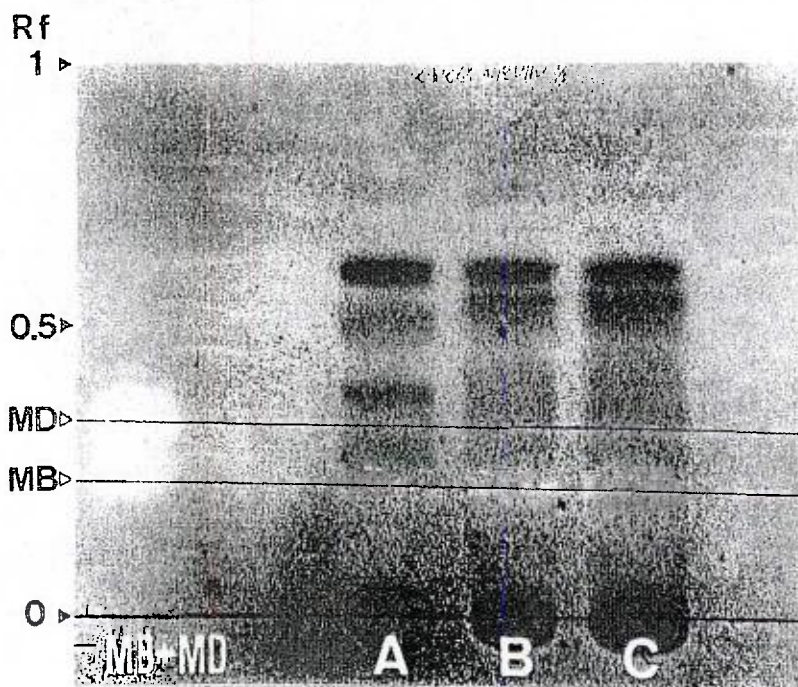


Fig. 3. Detection of myrotoxins from each part of the lesion caused by *Myrothecium roridum* strain M9403 by the thin layer chromatography bioassay.

The parts A, B and C of the lesion were shown in Figure 1. MB+MD: Mixture of myrotoxins B and D.

Fig. 3. Détection des myrotoxines sur chaque partie des lésions causées par la souche M9403 de *Myrothecium roridum* grâce à l'évaluation biologique par chromatographie sur couche mince.

Les parties A, B et C de la lésion sont présentées dans la Figure 1. MB + MD : Mélange de myrotoxines B et D.

DISCUSSION

The total toxic activity of the extracts from the lesion caused by the strain M9403 was enough to cause necrosis to the mulberry leaves. This suggests that the mycotoxins produced by the strain M9403 might act in the pathogenicity of the fungus.

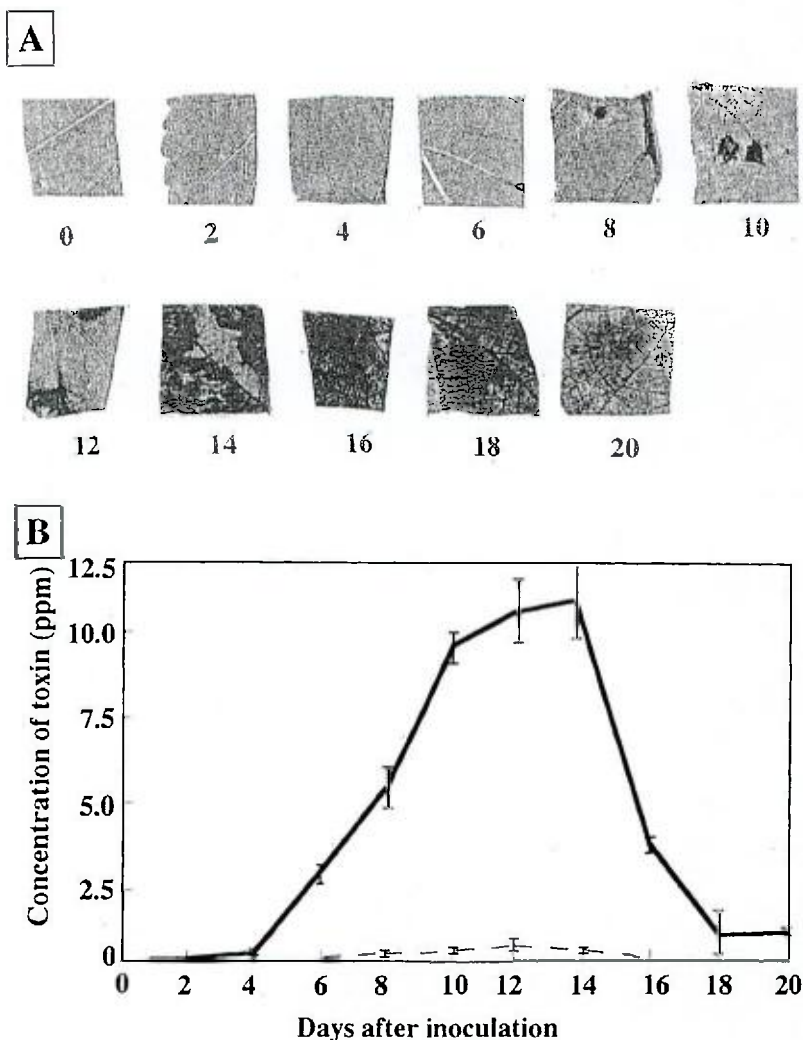


Fig. 4. Changes in concentration of myrotoxins B and D in the mulberry leaves infected with *Myrothecium roridum* strain M9403 one to 20 days after the inoculation.

(A) Inoculated leaves with *Myrothecium roridum* strain M9403 at each sampling day. Numbers under the photographs indicate days after the inoculation with the strain M9403. The leaves were used for quantification of myrotoxins B and D in mulberry leaves infected with the fungus.

(B) Concentrations of myrotoxins B (solid line) and D (broken line) recorded for each sampling day. Bars in figure show standard errors of average ppm.

Fig. 4. Changements de la concentration en myrotoxines B et D dans les feuilles de mûrier infestées par la souche M9403 de *Myrothecium roridum* un à vingt jours après l'inoculation.

(A) Feuilles inocuées par la souche M9403 de *Myrothecium roridum* à chaque jour de prélèvement. Les nombres sous les photos indiquent les jours après l'inoculation avec la souche M9403. On utilise les feuilles pour la quantification des myrotoxines B et D dans les feuilles de mûrier infestées par le champignon.

(B) Concentrations en myrotoxines B (ligne solide) et D (ligne interrompue) enregistrées pour chaque jour de prélèvement. Les barres dans la figure montrent les écarts types pour la concentration ppm moyenne.

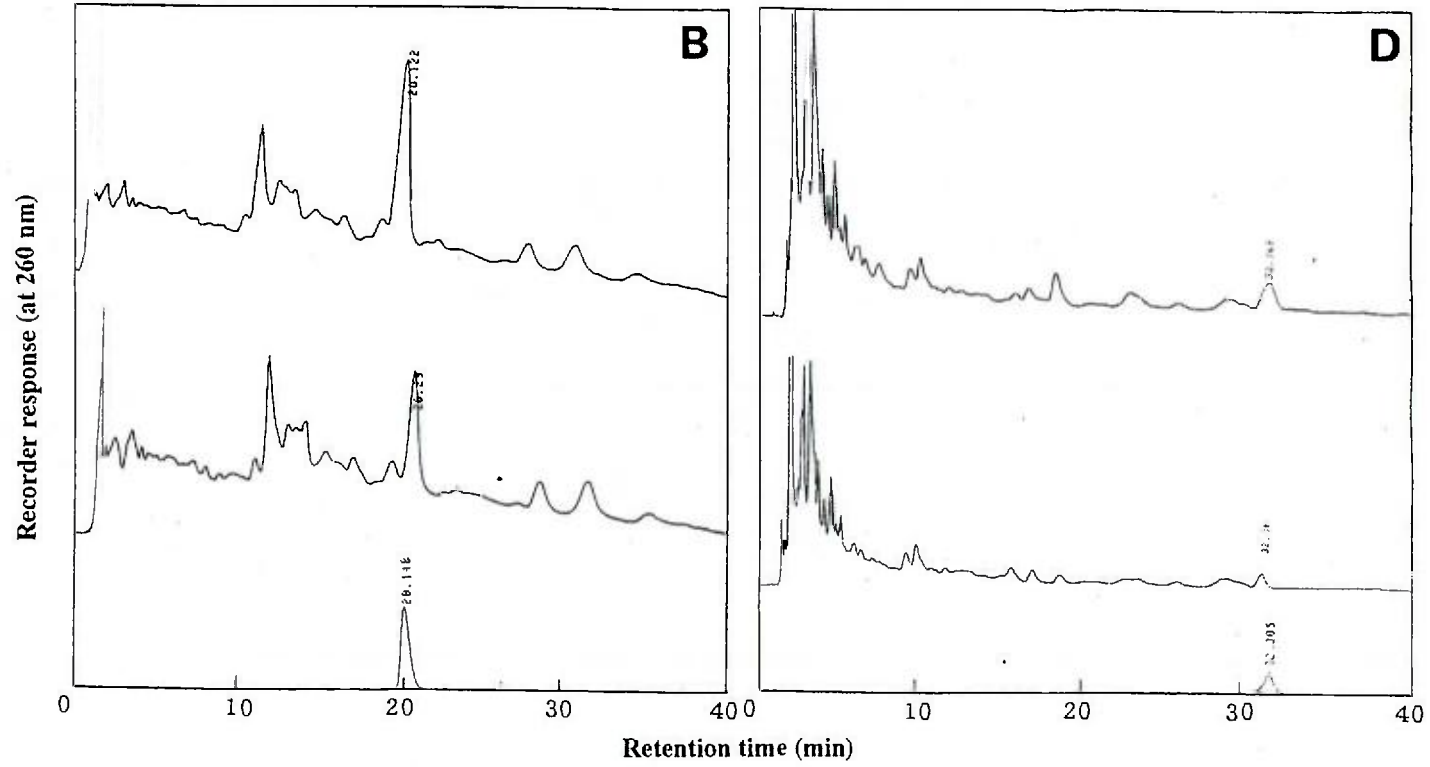


Figure 5. HPLC spectra of myrotoxins B (left) and D (right) extracted from the diseased mulberry leaves inoculated with *Myrothecium roridum* strain M9403.

Upper: Extracts from the diseased leaves added myrotoxins B or D. Middle: Extracts from the diseased leaves. Bottom: Myrotoxins B or D.

Figure 5. Spectre HPLC des myrotoxines B (à gauche) et D (à droite) extraites des feuilles de mûrier malades inoculées avec la souche M9403 de *Myrothecium roridum*.

Partie supérieure : Extraits de feuilles malades auxquelles on a ajouté des myrotoxines B ou D. Milieu : Extraits de feuilles malades. Bas : Myrotoxines B ou D.

Cunfer and Lukežic only partially characterized the mycotoxins from the diseased red clover leaves inoculated with *M. roridum* (Cunfer and Lukežic, 1969) but the toxins were not identified. Since the detection of the trichothecenes produced by *Myrothecium* in the infected plant tissues was unsuccessful, it has been unclear whether the trichothecenes produced by the fungus could be considered as pathotoxins.

This report is the first to detect the trichothecenes produced by *Myrothecium* in the lesion of the mulberry leaves inoculated with the strain M9403. The results show that some trichothecenes produced by *Myrothecium* may be involved as pathotoxins. Myrotoxins were detected at 0.1 to 11.5 ppm in this experiment. This concentration is considered to correspond to that of myrotoxins in the diseased mulberry leaves, because the concentration is within the extent of those of the other quantified trichothecenes produced by *Fusarium* in the diseased plants in fields (Ueno, 1980).

Myrotoxin B is considered to act as a main pathotoxin in the pathogenicity of the fungus since its concentration was the highest among the detected toxins in the lesions in M9403-inoculated mulberry leaves (Figs. 3 and 4) and its toxic activity was the highest among mycotoxins produced by the strain M9403 (Murakami *et al.*, 1999). Although myrotoxin D was also detected in the lesions and in the diseased tissues, its concentration was lower than that of myrotoxin B and its toxic activity was 12 times lower than that of the latter (Murakami *et al.*, 1994). Thus, myrotoxin D is not considered to be a main pathotoxin in the pathogenicity of the strain M9403, although it might be also involved as pathotoxin.

Pathotoxins are divided into two main categories, pathogenicity factors and virulence factors according to their role in the pathogenicity. Pathogenicity factors act when the pathogens invade host plants, and virulence factors function in developing lesions formed by the pathogen (Rudolph, 1976; Scheffer, 1983). Most pathotoxins belonging to pathogenicity factors should be produced on the host plants within one to two days after the infection of the pathogen. Myrotoxin B was probably produced by the strain M9403 in the mulberry leaves at least one day after infection, because the fraction with a retention time of 20 min eluted by HPLC from the mulberry leaves one day after inoculation with the fungus exhibited the toxic activity to the mulberry leaves. This fact suggests that myrotoxin B may be involved among pathogenicity factors, although more detailed examinations are needed. Moreover, the toxin also seems to play as a virulence factor in the pathogenicity of the strain M9403, because myrotoxin B was detected from the lesions developing on M9403-inoculated mulberry leaves.

There are various pathotoxins that are not divided into pathogenic factors or virulence factors (Scheffer, 1983). We consider that myrotoxin B may be involved both as a pathogenicity factor and a virulence factor and the results of this study contribute to the clarification of the mechanisms of phytotoxin production by the phytopathogens as well as the mechanisms of disease development caused by *Myrothecium*.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to referee and Dr. N. Hinomoto and Dr. H. Tamura, National Institute of Biological Sciences for revising the English in this paper.

REFERENCES

- BEAN G.A., KUTI J. & NG, T. (1988) Involvement of trichothecenes in the pathogenicity of *Myrothecium roridum*. p. 608-613. In Abstr. Biodeterioration 7: Seventh International Biodeterioration Symposium. Cambridge, England, UK.
- CHARLES L.F. (1957). *Myrothecium roridum* on gardenia. *Mycologia* 49: 124-127.
- CUNFER B. M. & LUKEŽIC, F. L. (1969) A toxin from *Myrothecium roridum* and its possible in *Myrothecium* leafspot of red clover. *Phytopathol.* 60: 341-344.

- DESJARDINS A. E., SPENCER G. F., PLATTNER R. D. & BEREMAND, M. N. (1989) Furanocoumarin phytoalexins, trichothecene toxins, and infection of *Pastinaca sativa* by *Fusarium sporotrichioides*. *Phytopathol.* 79: 170-175.
- DICKINSON, C. H. & LUCAS, J. A. (1982) Host-pathogen interaction at the molecular level. In *Plant Pathology & Plant Pathogens*. (Wilkinson, J. F. ed) p. 136-166. Blackwell Scientific Pub., Victoria.
- EHRICH K. C. & DAIGLE K. W. (1987) Protein synthesis inhibition by 8-oxo-12,13-epoxytrichothecenes. *Biochimica. Biophysica. Acta.* 923: 206-213.
- HART L. P., BRASELTON, JR. & STEBBINS T. C. (1982) Production of zealarenone and deoxynivalenol in commercial sweet corn. *Plant Dis.* 66: 1133-1135.
- HEALEY P., NG, T. J. & HAMMERSCHLAG F. A. (1994) Response of leaf spot-sensitive and tolerant muskmelon (*Cucumis melo* L.) cells to the phytotoxin roridin E. *Plant Sci.* 97: 15-21.
- JARVIS B. B., COMEZOLGU F. T., WANG, S. & AMMON, H. L. (1991) Mycotoxins from a plant pathogenic isolate of *Myrothecium roridum*. *Mycotoxin Research* 7: 73-78.
- KUTI, J. O., NG, T. J. & BEAN, G. A. (1989). Possible involvement of a pathogen-produced trichothecene metabolite in *Myrothecium* leaf spot of muskmelon. *Physiol. Molecular Plant Pathol.* 34: 41-53.
- MACKAY W. A., NG T. J. & HAMMERSCHLAG F. A. (1994) *Cucumis melo* L. callus response to toxins produced by *Myrothecium roridum* Tode ex. Fries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 199: 356-360.
- MCLEAN D. M. & SLEETH B. (1961). *Myrothecium* rind rot of cantaloupe. *Plant Dis. Repr.* 45: 728-729.
- MURAKAMI R. & SHIRATA A. (1998a). The toxic components produced by *Myrothecium roridum* causal fungus of leaf spot of mulberry and it's influence on the pathogenicity. *J. Seric. Sci. Jpn.* 67: 57-64.
- MURAKAMI R. & SHIRATA A. (1998b). Production of the toxic components from *Myrothecium roridum* and its toxicity to various plants. *J. Seric. Sci. Jpn.* 67: 135-142.
- MURAKAMI R., YASUI, H., SHIRATA A. & KATO A. (1999). Production of myrotoxin B by *Myrothecium roridum* isolated from *Myrothecium* leaf spot of mulberry in Japan. *J. Seric. Sci. Jpn.* 68: 469-477.
- NESPIAK A., KOCOR M. & SIEWINSKI A. (1961) Antibiotic properties of mycelium and metabolites of *Myrothecium roridum*. *Nature.* 192: 138-139.
- RAJAK R. C. & SANGI N. (1989). Pathological studies on two strains of *Myrothecium roridum* cause of fruit rot of tomato. *Proc. Nat. Acad. Sci. India* 59: 335-338.
- RUDOLPH K. (1976) Non-specific toxins. In *Encyclopedia of Plant Pathology*. New. Ser. Vol. 4. *Physiological Plant Pathology*. (Heitefuss, R. and Williams, P. H. eds.) p. 270-315. New York Springer, New York.
- SCHEFFER R. P. (1983) Toxins as chemical determinations of plant disease. In *Toxins and Plant Pathogenesis*. (Daly, J. M. and Deverall, B. J. eds.) p. 1-40. Academic Press, Sydney.
- SNIJARDINS C. H. A. & KRECHTING C. F. (1992) Inhibition of deoxynivalenol translocation and fungal colonization in *Fusarium* head blight resistant wheat. *Can. J. Bot.* 70: 1570-1576.
- TAKAHASHI K., SEGAWA, H. & KOBAYASHI T. (1994). *Myrothecium* leaf spot of mulberry caused by *Myrothecium roridum* Tode: Fries. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 60: 122-127.
- TAKANO K. (1992) Leaf spot of vinca (*Vinca rosea* L.) caused by *Myrothecium roridum* Tode ex Fr. in Japan. *Proceedings of Association Plant Protection of Hokuriku* 40: 37-42.
- UENO Y. (1980). Trichothecene mycotoxins mycology, chemistry, and toxicology. *Adv. Nutr. Sci.* 3: 301-353.

DETECTION DES MYROTOXINES PRODUITES PAR MYROTHECIUM LE PATHOGENE DE LA TACHE DE LA FEUILLE DU MURIER

R. MURAKAMI, K. MIYAMOTO, W. MITSUHASHI & S. WADA

National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2, Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japon.

*Les myrotoxines B et D produites dans la souche M9403 de la culture de **Myrothecium roridum** ont aussi été détectées sur des feuilles de mûrier malades inoculées avec le champignon qui est le pathogène responsable de la tache de la feuille **Myrothecium** du mûrier. Cependant, les rôles des deux toxines dans la pathogénicité du champignon n'avait pas été examiné. On a donc détecté les toxines des feuilles de mûrier infestées par la souche M9403 pour examiner leurs rôles. Les extraits des parties centrales, du milieu, et des bord des lésions des feuilles malades entraînent des nécroses des feuilles de mûrier. L'activité toxique de l'extrait de la partie centrale des lésions est la plus élevée par rapport aux activités des extraits des autres endroits. On détecte la myrotoxine B dans toutes les parties des lésions avec la méthode d'évaluation biologique par la chromatographie sur couche mince mais on ne détecte la myrotoxine D que dans la partie centrale des lésions. On détecte le pic de la myrotoxine B dans les feuilles de mûrier inoculées avec la souche M9403 par la chromatographie à haute performance (HPLC) deux à vingt jours après l'inoculation. La concentration en myrotoxine B atteint le maximum (11,5 ppm) 14 jours après l'inoculation. D'autre part, on détecte le pic de myrotoxine D par HPLC 6 à 16 jours après l'inoculation mais il reste bas pendant toute la période. Ces résultats suggèrent que la myrotoxine B pourrait être la pathotoxine principale dans la pathogénicité de la souche M9403 et la myrotoxine D agirait comme un type mineur de pathotoxine du champignon.*

INTRODUCTION

Myrothecium roridum Tode ex Fries entraîne la tache de la feuille du mûrier *Morus alba* et de *M. bombycis* (Takahashi et coll., 1994) et produit des toxines de trichothécènes macrocycliques comme métabolites mycototoxiques dans une culture : principalement la myrotoxine B avec une petite quantité de myrotoxine D (Murakami et coll., 1999). Les trichothécènes sont des epoxides sesquiterpénoides produits par plusieurs genres de champignons Imperfecti tels que *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* et *Trichotheicum* (Ueno, 1980). Les trichothécènes présentent des activités biologiques variées dont des effets antifongique (Nespiak et coll., 1961), cytotoxique (Ueno, 1980) et phytotoxique (Murakami et Shirata, 1998b) par l'empêchement de l'allongement de la chaîne des polypeptides dans les cellules eukaryotes (Ehrich et Daigle, 1987). Les mycotoxines sont produites par des phytopathogènes variés. Les mycotoxines qui jouent un rôle dans la maladie s'appellent les pathotoxines. Pour prouver qu'une mycotoxine est une pathotoxine, il est nécessaire d'isoler ou de détecter la mycotoxine de la lésion (Dickinson et Lucas, 1982). Le rôle des trichothécènes dans la pathogénicité des champignons qui les produisent n'est pas clair parce qu'il est difficile de les détecter sur les plantes infestées. Cependant, on a détecté certains trichothécènes produits par *Fusarium* sur les plantes malades par des méthodes chimiques récemment mises au point. Par exemple, on a détecté le déoxynivalénol et le zéaralénone qui appartiennent aux trichothécènes sur les tissus des plantes malades infestées par *F. graminearum* et classées comme des pathotoxines (Desjardins et coll., 1989 ; Hart et coll., 1982 ; Snijders et Krechting, 1992). Mais jusqu'à présent on n'a pas détecté les trichothécènes produits par *Myrothecium*.

Myrothecium roridum entraîne les maladies de la tache de la feuille et du pourrissement du fruit chez des plantes variées (Charles, 1957 ; McLean et Sleeth, 1961 ; Cunfer et Lukezic, 1969 ; Takano, 1992 ; Takahashi et coll., 1994). Bien que *M. roridum* produise de nombreux types de trichotécènes y compris les verrucarines, les roritoxines, les roridines et d'autres, le pathogène de la tomate et le pathogène du cantaloup produisent seulement des myrotoxines A, B, C et D dans une culture. Ces faits suggèrent que les myrotoxines pourraient jouer un rôle important dans la pathogénicité des champignons (Jarvis et coll., 1991 ; Rajak et Sangi, 1999). De plus, il y a plusieurs rapports sur le trichotécène roridine E, produit par le pathogène du cantaloup dans une culture, induisant une réponse toxique spécifique au cultivar chez la plante hôte (Bean et coll., 1988 ; Kuti et coll., 1989 ; Healey et coll., 1994 ; Mackay et coll., 1994).

Cependant, il n'est pas clair si les trichotécènes sont produits par *M. roridum* chez les plantes hôtes parce qu'il n'y a pas de résultats sur la détection de ceux qui sont produits par le champignon dans les tissus de la plante hôte. Nous avons donc examiné l'existence de myrotoxines produites par *M. roridum* dans les feuilles de mûrier malades.

MATERIELS ET METHODES

Préparation des feuilles de mûrier :

Le cultivar de mûrier " Schin-ichinose " est cultivé dans la mûraie du *National Institute of Agrobiological Sciences* (Tsukuba, Japon). On laboure le champ pour lutter contre les mauvaises herbes et on s'assure que le sol est exempt de *M. roridum*. On recueille les feuilles de mûrier environ 30 cm en-dessous du sommet des branches et on les stérilise avec de l'éthanol à 70 %.

Si besoin est, on perce les feuilles avec un paquet de dix aiguilles (partie percée). Les feuilles utilisées comme inoculum sont conservées à 25° C.

Souche et culture fongique :

On a isolé la souche M9403 de *Myrothecium roridum* sur des feuilles de mûrier dans la préfecture de Kagoshima au Japon (Murakami et Shirata, 1998a) et on l'a cultivée sur un milieu agar / saccharose / pomme de terre (PSA : 2 % de saccharose, 1,8 % d'agar dans du bouillon de pomme de terre) à 25° C pendant deux semaines.

Purification des myrotoxines B et D :

On purifie les myrotoxines B et D d'après la méthode de Murakami et coll., (1999). On cultive la souche M9403 sur du PSA à 25° C pendant un mois, et on isole les myrotoxines B et D du filtrat de culture en utilisant une chromatographie liquide à haute performance (HPLC, LC 10A, Shimadzu, Kyoto).

Evaluation de l'activité toxique totale de l'extrait dans chaque partie des lésions :

On place sur les feuilles des morceaux de lésion (3 × 3 mm) formés par l'inoculation avec la souche M9403 sur les feuilles de mûrier pour former de nouvelles lésions. On incube les feuilles inoculées à 25° C. Des lésions d'environ 3 cm de diamètre se forment environ 10 jours après l'inoculation. On divise la lésion en trois parties : partie A de 0 à 5 mm en dehors de la lésion, partie B est au bord de la lésion où se forment des hyphes et où la couleur des nervures passe de vert à marron et la partie C au centre de la lésion où les sporodoches et les hyphes se forment et la couleur de la feuille devient marron (Fig. 1).

Pour doser l'activité toxique des extraits des parties A à C de la lésion, on fait tremper un gramme de morceaux de feuilles de chaque partie dans 10 ml de méthanol en agitant à 90 rpm pendant deux heures trois fois, et on fait évaporer l'extrait qui en résulte. Puis on dissout chaque extrait dans 1 ml de méthanol à 0,1 %. On définit cette concentration d'extrait de solution comme une concentration un. On concentre ou on dilue l'extrait avec 0,1 % de méthanol pour préparer des solutions à 17 niveaux

différents de concentration compris entre une concentration de 2^2 et de 2^{-14} . Puis on laisse tomber 10 μ l de chaque solution sur six parties perforées des feuilles de mûrier. On examine la nécrose provoquée par chaque solution sept jours après les traitements.

Détection des myrotoxines sur les lésions :

La méthode pour l'extraction des myrotoxines des parties A et C des lésions est la même que celle pour le dosage de l'activité toxique totale des extraits de chaque partie de la lésion. On analyse la présence des myrotoxines dans la lésion à partir de 40 μ l de chaque partie extraite à une concentration un en utilisant la chromatographie sur couche mince (TLC : DC – Alufolien Kieselgel 60 F254, Merk, Darmstadt, Allemagne) dans de l'éther diéthylique en suivant la méthode d'évaluation biologique TLC (Murakami et Shirata, 1998a). Les conidies de la souche fongique M9401, qui est sensible aux mycotoxines produites par *M. roridum*, sont vaporisées sur la plaque TLC pour détecter les myrotoxines dans les extraits. On mesure les zones où des tâches présentant une activité antifongique par rapport à la souche M9401 sur la plaque émergent deux jours après les traitements.

Quantification des myrotoxines dans les lésions en développement :

On a recueilli les feuilles de mûrier le 7 septembre 1998 et on les a coupées en morceaux de 1,5 $\times$ 1,5 cm (morceaux de feuilles). Avant l'inoculation conidiale de la souche M9403, on recueille les conidies de la culture pour une incubation pendant deux semaines et on les lave avec de l'eau distillée stérilisée trois fois pour éviter la contamination de n'importe quelle mycotoxine sécrétée par le champignon. On fait tremper deux cent grammes de morceaux de feuilles dans la suspension conidiale (5×10^5 conidies / ml). On incube les morceaux de feuille inoculés à 25° C et on les échantillonne le premier jour et chaque jour après l'inoculation pendant 20 jours. On purifie les myrotoxines B et D selon le protocole présenté dans la Figure 2. On sèche les morceaux de feuilles inoculées (80° C pendant 8 h) dans un four aéré (WFO-450ND, EYELA, Tokyo), on les pulvérise avec un moulin (MCG-180, Matsubara, Osaka) pendant trois minutes et on les stocke dans un dessiccateur avec de l'anhydride phosphorique à 5° C. On fait tremper les morceaux de feuilles dans 1500 ml de méthanol et on les secoue à 90 tpm pendant une heure et on répète cette extraction trois fois. Pour évaluer l'activité toxique de chaque extrait, on sèche chaque extrait et on le dissout dans 0,1 % de méthanol. On dépose les fractions de solutions en résultant (20 μ l, 100 ppm) sur des parties perforées supplémentaires des mêmes feuilles de mûrier. Comme témoin, on dépose 20 μ l de méthanol à 0,1 % sur les parties perforées des feuilles de mûrier et on confirme que cela n'affecte pas les feuilles. On évalue l'activité toxique d'après l'étendue de la nécrose qui émerge sur la partie sept jours après l'application. Quand on dépose un extrait avec une activité toxique sur les feuilles, la nécrose émerge. On fait évaporer l'extrait toxique sous une pression réduite en résidu huileux et on suspend le résidu dans 400 ml d'eau. On secoue la solution avec 400 ml d'acétate d'éthyle en utilisant un entonnoir de séparation de 1000 ml trois fois. On fait évaporer les couches d'acétate soluble avec une activité toxique, on les dissout dans 500 μ l de méthanol et on les fractionne en utilisant la chromatographie liquide à phase normale (NPLC) sur une colonne fonctionnant par gravité (GC) remplie avec 24 g de Wakogel C-300 (Wako Pure Chemical Industries, Osaka). On l'élue avec un volume d'hexane – acétate d'éthyle de 120 ml (2 : 1, 1 : 1, 1 : 2), acétate d'éthyl et acétate d'éthyl – méthanol (5 : 1, 2 : 1). Puis chaque fraction toxique élue est fractionnée par une chromatographie liquide en phase inversée (RPLC) sur GC remplie avec 5 g de Cosmosil 140C₁₈-OPN (Nacalai Tesque, Kyoto, Japon). On l'élue par éluants successifs avec 25 ml de méthanol (0-100 % à des intervalles de 10 %). On réalise l'analyse HPLC de chaque sous-fraction toxique (20 μ l, 1000 ppm) avec un système d'alimentation à solvant LC10A avec une colonne ODS-II (4,6 mm $\times$ 15 cm, Shimadzu Techno-Research, Kyoto) associé à un système de détection UV/Vis PD-10AV à longueur d'onde variable fixé à 260 nm. On élue les composants toxiques avec du méthanol aqueux à 50 % (vitesse d'élution à 1 ml / min) à 40° C. Pour examiner les activités toxiques des fractions élues, on les

évaapore, on les dissout dans 20µl de méthanol à 0,1 % et on les dépose sur les parties perforées des feuilles de mûrier. On procède à la quantification des myrotoxines B et D en comparant les hauteurs sommets des échantillons injectés avec ceux des normes authentiques, dont on vérifie la pureté par HPLC. On répète cette expérience trois fois.

RESULTATS

Activité toxique totale de chaque extrait des lésions :

Les extraits des parties A (Fig. 1, à gauche) à concentration 2^{-5} et 2^{-2} provoquent des nécroses sur les feuilles de mûrier et la concentration 2^{-5} et 2^{-2} des extraits de la partie B et la concentration multipliée par 2^{-8} et par 2^{-2} des extraits de la partie C entraînent des nécroses (Tableau I).

Ces résultats montrent que les substances toxiques envers les feuilles de mûrier sont contenues dans les lésions et l'activité toxique de l'extrait de la partie centrale de la lésion est la plus élevée parmi les parties de la lésion.

Détection des myrotoxines dans les lésions :

Avec la méthode d'évaluation biologique par chromatographie sur couche mince (TLC), il s'avère que les mycotoxines produites par *M. roridum* ont une activité antifongique. La couleur des plaques TLC est blanche et celle des hyphes de M9401 est noire. Donc, les couleurs des zones des plaques où les mycotoxines existent sont blanches et là où elles sont absentes elles sont noires. Cependant, les couleurs des zones où les mycotoxines existent sont en fait jaune-vert, parce que les pigments des morceaux de feuilles se développent aussi sur les plaques par cette méthode. On détecte des taches jaune-vert sur la plaque colorée en noir, ce qui indique l'existence de mycotoxines sur les feuilles malades.

Dans les parties A à C (Fig. 1), on détecte les taches jaune vert à $R_f 0.2$ sur la plaque TLC (Fig. 3) et les extraits méthanol de gel de silice des taches présentent une activité toxique envers les feuilles de mûrier. Puisqu'on n'observe pas de différence de la valeur R_f entre les taches et la myrotoxine pure B ($R_f 0.2$), on considère que les taches sont identiques à celles de la myrotoxine B.

Dans la partie A, on détecte une petite tache de myrotoxine B. Dans les parties B et C, les zones des taches où les myrotoxines B existent sont de respectivement $3,7 \text{ mm}^2$ et $7,5 \text{ mm}^2$. On ne détecte une petite tache identique à la myrotoxine D ($R_f 0.3$) que dans la partie C.

Quantification des myrotoxines dans les lésions en développement :

On isole *Myrothecium roridum* à partir des morceaux de feuilles inoculés avec les conidies de la souche M9403 et des nécroses émergent sur le bord des morceaux deux jours après l'inoculation (Fig. 4-A). Dix jours après l'inoculation, des nécroses émergent sur approximativement un treizième des morceaux et des sporodoches de *M. roridum* se forment sur les morceaux. Douze, quatorze et seize jours après l'inoculation, des nécroses émergent sur respectivement approximativement un dixième, deux tiers et tous les morceaux.

Aucune fraction éluée avec du méthanol / acétate d'éthyle par NPLC ne présente d'activité toxique. La fraction avec un temps de rétention de 20 min sur le chromatogramme de l'HPLC présente une activité toxique envers les feuilles de mûrier et le pic est identique à celui de la myrotoxine B (Fig. 5). Les sous-fractions 2 par NPLC et les 4 par RPLC présentent une activité toxique un jour après l'inoculation (Fig. 2). Lors de l'examen HPLC de la sous-fraction 4 des feuilles un jour après l'inoculation, la fraction avec un temps de rétention de 20 min présente une activité toxique envers les feuilles de mûrier. On détecte le pic de la myrotoxine B sur le chromatogramme HPLC des fractions des feuilles 2 à 20 jours après l'inoculation. On détecte le pic de la myrotoxine B dans les sous-fractions 2 et 4 deux jours après l'inoculation et dans les sous-fractions 2 et 3 par NPLC et dans les sous-fractions 4 à 7 par RPLC 4 à 20 jours après l'inoculation. La concentration de la myrotoxine

B est la plus élevée (11,5 ppm) 14 jours après l'inoculation, et puis elle baisse ($P < 0,001$ à ANOVA) (Fig. 4B).

La fraction avec un temps de rétention de 32 min présente aussi une activité toxique et son pic est identique à celui de la myrotoxine D. On détecte le pic de la myrotoxine D sur le chromatogramme HPLC des sous-fractions 1 par NPLC et 5 par RPLC des feuilles 6 à 16 jours après l'inoculation. La concentration de la myrotoxine D reste faible pendant cette période.

DISCUSSION

L'activité toxique totale des extraits de la lésion provoquée par la souche M9403 est suffisante pour provoquer la nécrose des feuilles de mûrier (Fig. 1). Cela suggère que les mycotoxines produits par la souche M9403 pourraient avoir un rôle dans la pathogénicité du champignon.

Cunfer et Lukezic ont seulement partiellement caractérisé les mycotoxines des feuilles du trèfle rouge inoculées avec *M. vridum* (Cunfer et Lukezic, 1969) mais on n'a pas identifié les toxines. Puisqu'on n'avait pas réussi la détection des trichothécènes produits par *Myrothecium* dans les tissus de la plante infestée, il n'était pas clair si les trichothécènes produits par le champignon pourraient être considérés comme des pathotoxines.

Ce rapport est le premier à avoir détecté les trichothécènes produits par *Myrothecium* dans la lésion des feuilles de mûrier inoculées avec la souche M9403. Les résultats montrent que certains des trichothécènes produits par *Myrothecium* pourraient être impliqués comme des pathotoxines. On détecte les myrotoxines de 0,1 à 11,5 ppm dans cette expérience. On considère que cette concentration correspond à celle des myrotoxines dans les feuilles de mûrier malades parce que la concentration est de l'ordre de celles des autres trichothécènes quantifiés produits par *Fusarium* chez les plants malades dans les champs (Ueno, 1980).

On considère que la myrotoxine B agit comme une pathotoxine principale dans la pathogénicité du champignon puisque sa concentration est la plus élevée parmi les toxines détectées dans les lésions chez les feuilles de mûrier inoculées par M9403 (Figs. 3 et 4) et son activité toxique est la plus élevée parmi les mycotoxines produites par la souche M9403 (Murakami et coll., 1999). Bien que l'on détecte la myrotoxine D dans les lésions et dans les tissus malades, sa concentration est plus faible que celle de la myrotoxine B et son activité toxique est 12 fois plus basse que celle de cette dernière (Murakami et coll., 1994). Ainsi, on ne considère pas la myrotoxine D comme la principale pathotoxine dans la pathogénicité de la souche M9403, bien qu'elle pourrait aussi être impliquée comme pathotoxine.

Les pathotoxines sont divisées en deux catégories principales, ce sont soit des facteurs de pathogénicité soit des facteurs de virulence selon leur rôle dans la pathogénicité. Les facteurs de pathogénicité agissent quand les pathogènes envahissent les plantes hôtes et les facteurs de virulence agissent dans le développement des lésions formées par le pathogène (Rudolph, 1976 ; Scheffer, 1983). La plupart de pathotoxines appartenant aux facteurs de pathogénicité devraient être produites sur les plantes hôtes un ou deux jours après l'infection du pathogène. La myrotoxine B est probablement produite par la souche M9403 dans les feuilles de mûrier au moins un jour après l'infestation, parce que la fraction avec un temps de rétention de 20 min élue par HPLC à partir des feuilles de mûrier un jour après l'inoculation avec le champignon présente une activité toxique envers les feuilles de mûrier. Ce fait suggère que la myrotoxine B pourrait être impliquée parmi les facteurs de pathogénicité bien qu'il faudrait des examens plus détaillés. De plus, la toxine semble aussi agir comme facteur de virulence dans la pathogénicité de la souche M9403, parce qu'on détecte la myrotoxine B dans les lésions se développant sur les feuilles de mûrier inoculées avec M9403.

Il y a des pathotoxines variées qui ne sont pas divisées en facteurs pathogéniques ou en facteurs de virulence (Scheffer, 1983). Nous considérons que la myrotoxine B pourrait être impliquée à la fois comme facteur de pathogénicité et comme facteur de virulence et les résultats de cette étude contribuent à la clarification des mécanismes de production des phytotoxines par les phytopathogènes ainsi que des mécanismes du développement de la maladie provoquée par *Myrothecium*.

FEEDING AND MOULTING BEHAVIOUR OF MUGA SILKWORM (*ANTHERAEA ASSAMA* WW.) ON DIFFERENT FOOD PLANTS

R. CHAKRAVORTY, K. NEOG, N. SURYANARAYANA* & L. K. HAZARIKA**

Centre for Integrated Sericulture Research, Central Silk Board, Jamuguri, Rowriah, Jorhat-785005, Assam, India.

*An experiment was conducted in the Centre for Integrated Sericulture Research, Central Silk Board, Jorhat to study the preferential feeding and moulting behaviour of Muga silkworm (*Antheraea assama*, Ww. Saturniidae: Lepidoptera) on som (*Machilus*(=*Persea*) *bombycina*), Soalu (*Litsaea polyantha*) and Digloti (*Litsaea salicifolia*) in spring (April-May) and Autumn (October-November) seasons, 2002. Newly hatched (within 1 hour) muga silkworms were placed at the centre of a triangle of som, soalu and digloti branches with 5-6 twigs with atleast 100 leaves of each kept 1ft away from the centre. Settling percentage and moulting ratio up to second instar of the larvae was recorded. This experiment was also conducted using second instar. Settling percentage of the first instar was significantly higher on som, followed by soalu and digloti respectively irrespective of season. Likewise, moulting ratio of both first and second instar larvae was significantly higher in Som (80.06 % and 84.88%, respectively). But, weight of 100 larvae was recorded higher in soalu for both the instars (5.99g and 14.42g respectively). Based on above, it may be concluded that som was most preferred. Correlation between biochemical parameters with moulting ratio and weight of 100 larvae revealed positive correlation between moulting percentage and all biochemical parameters except moisture and starch content. Weight of first instar larvae showed positive correlation with all the parameters except crude fibre and starch content, while weak negative correlation was recorded for second instar larvae with total soluble sugar, crude fat and β -sitosterol.*

Keywords: *Antheraea assama*, Moulting, food plants, feeding behaviour.

INTRODUCTION

Muga silkworm (*Antheraea assama* Westwood), the producer of shimmering golden yellow silk is a native of Brahmaputra valley of Assam in India. It is a representative of family Saturniidae of order Lepidoptera and has got great economic importance for the high quality silk produced by the insect. The muga silkworm is a polyphagus, semidomesticated, normally multivoltine insect and has five to six generations in a year (Seitz, 1933; Choudhury, 1982). Som (*Machilus* (= *Persea*) *bombycina*) and Soalu (*Litsea polyantha*) two evergreen plants are considered as the best food plants for rearing muga silkworm. The broods of muga silkworm out of five are popular as commercial broods and are locally known as Katiya (Autumn) and Jethua (Spring) crops. The climatic conditions

* Central Muga & Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat-785005, Assam, India.

**Department of Entomology, Assam Agricultural University, Jorhat-785013, India.

prevailing during these periods in Assam are more favourable for muga culture (Yadav *et al.*, 1990) in comparison to climatic conditions during other (seed) broods.

Chawki rearing is considered as a vital aspect of mulberry sericulture as it decides the survival of worms in late stage, their health, robustness and quality of cocoon crops (Watanabe and Imanishi, 1980). Growth and development of silkworm *Bombyx mori* L. and the cocoon crop yields are influenced largely by the varietal differences and nutritional quality of mulberry (*Morus spp.*) leaf as feed (Parpiev, 1968; Krishnaswami *et al.*, 1970; Petkov and Mirchena, 1979). Biochemical constituents of the leaves may be the factors responsible for preferential selection of host plants by muga silkworm *A. assama* (Hazarika *et al.*, 1995b; Bordoloi and Hazarika, 1998). A number of works have been done regarding bioassay moulting response of mulberry silkworm (*B. mori* L.) in relation to leaf nutritive constituents (Bongale *et al.*, 1993; Chaluvachari and Bongale 1994, 1996). But such studies are not reported regarding moulting response of muga silkworm in relation to leaf nutritive constituents of its different host plants. Thus, an attempt of first kind has been made to distinguish the food plants based on preferential feeding by first and second stage muga larvae and then correlating the moulting response to their various biochemical constituents.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at field laboratory of Centre for Integrated Sericulture Research, Titabor, Jorhat, Assam, India, during spring (April-May) and autumn (October-November) seasons, 2002. Newly hatched muga silkworms were placed at the centre of a triangle of som, soalu and digloti branches with 5-6 twigs kept 1 ft away from the centre. Settling percentage of the larvae was recorded after complete movement of the worms to different branches. The experiment was also conducted using second instar. Bioassay moulting test up to the second moult was simultaneously conducted following the continuous feeding method (Takeuchi, 1961; Iwanari and Ohno, 1969). Weight of 100 larvae of each instar was taken when 20-25% of the larvae were found to settle for moulting. Eight biochemical parameters namely moisture, crude fibre, crude protein, total soluble sugar, reducing sugar, starch, crude fat and β -sitosterol was also estimated from tender but fully developed leaves of all the food plants following standard procedures. All the biochemical constituents of leaves except moisture were determined on oven dry basis. Moisture, crude fat, and crude fibre were estimated following the method of A. O. A. C. (1970). Kjeldhal's method as described by Wood *et al.* (1964) was followed for determination of total nitrogen from which crude protein was calculated by multiplying the estimated value of the nitrogen content by 6.25. Anthrone method (Yem and Willis, 1954) was followed to estimate reducing sugar, total soluble sugar and starch. β -sitosterol was estimated following the method of Katayama *et al.* (1974). Data from two harvests of spring and autumn season during 2002 were pooled for the three host plants and computed for correlation of leaf quality parameters with moulting ratio and larval weight at I and II moult.

RESULTS AND DISCUSSION

Settling percentage:

Analysis of variance for settling percentage and weight of first and second instars larvae is presented in Table I. It reveals that, settling percent in all the food plants varied significantly irrespective of season for both the instars. First instar larvae fed on som showed the highest settling percentage (50.25%) followed by worms fed on Soalu (28.81%). Worms fed on Digloti leaves showed significantly the least settling percentage (20.94%). Similar trend was also observed with second instar larvae. Here, som exhibited significantly the highest settling percentage (48.01%) followed by soalu (27.79%) and Digloti (24.20%).

Table I. Settling percentage, moulting ratio and weight of 100 larvae on different food plants.
Tableau I. Pourcentage de fixation, taux de mue et poids de 100 larves sur différentes plantes hôtes.

Food plants <i>Plantes hôtes</i>	Settling percentage <i>Pourcentage de fixation</i>		Moulting ratio <i>Taux de mue</i>		Weight of 100 larvae <i>Poids de 100 larves</i>	
	1st instar <i>1er âge</i>	2nd instar <i>2ème âge</i>	1st instar <i>1er âge</i>	2nd instar <i>2ème âge</i>	1st instar <i>1er âge</i>	2nd instar <i>2ème âge</i>
Som	50.25a	48.01a	80.60a	84.88a	5.55a	10.77b
Soalu	28.81b	27.79b	68.30b	67.48b	5.94a	14.42a
Digloti	20.94c	24.20c	60.28c	67.09b	4.16b	10.66b
Food plant S. Ed ($\pm$)	1.50	1.35	2.37	2.50	0.47	0.87
Plante hôte S. Ed ($\pm$)						
CD 0.05	3.27	2.94	5.15	5.44	1.03	1.90
Season S. Ed ($\pm$)	1.22	1.10	1.93	2.04	0.39	0.71
Saison S. Ed ($\pm$)						
CD 0.05	2.66	2.40	4.21	4.44	0.84	1.55
Interaction S. Ed ($\pm$)	2.12	1.91	3.35	3.53	0.67	1.24
CD 0.05	4.62	4.16	7.29	7.69	1.46	2.69

Figures with any common alphabet does not differ significantly / Les chiffres avec n'importe quelle lettre en commun ne varient pas de manière significative.

Moulting ratio:

Moulting ratio of the larvae was significantly higher in som for both first and second instar larvae (80.60% and 84.88%, respectively) over Soalu (68.30% and 67.48%) and Digloti (60.28% and 67.09%). Moulting ratio was higher in autumn season than that of spring season (Table III).

Weight of 100 larvae:

Weight of larvae of first stage silkworms fed to som and soalu (5.55g and 5.94g, respectively) was significantly higher compared to those fed to digloti (4.16g). But, at second stage, worms gained significant weight when fed to soalu (14.42g) leaves compared to som and digloti (10.77g and 10.66g, respectively) (Table I).

Biochemical composition of different food plants:

Data presented in Table II and III depict the mean values of eight different biochemical constituents in two different rearing seasons. All the biochemical parameters differed significantly among themselves in all the food plants under study. Except moisture and starch (66.89% and 5.87%, respectively), all other constituents were significantly higher in som compared to those in the leaves of soalu and digloti.

Pooled data of the three food plants under study revealed significant correlation (Table IV) of higher order (r values of 0.5 and more) for moulting ratio with crude protein, total soluble sugar, reducing sugar and β -sitosterol. Negative correlations of higher order were recorded for moulting ratio with starch, and moisture, body weight with crude fibre. Weak positive correlations existed between

between larval body weight at first instar with total soluble sugars, reducing sugars, crude fat and β -sitosterol while weak negative correlations exhibited between larval body weight at first instar with crude fibre, and starch. At second instar weak positive correlations were observed for larval body weight with crude protein and starch while negative correlations were observed for larval body weight with total soluble sugar, reducing sugars, crude fat and β -sitosterol.

Moisture acts as an olfactory and gustatory stimulant (Ito, 1967). Leaf moisture is known to increase the amount of nitrogen and digestion capacity of silkworm. For mulberry silkworm rearing, varieties containing 70% or more leaf moisture content are considered optimum (Jolly and Dandin, 1986). In the present investigation, the moisture content in the leaves of different food plants varied from 66.89% in som to 74.73% in soalu (Table II). From the pooled average values (Table III) it is revealed that leaf moisture content of the food plants was higher in spring season (78.83%) compared to autumn (61.71%).

Significant difference in the crude fibre content was noticed in the leaves of different food plants taken in the present study. The average crude fibre content of leaves as a whole irrespective of season was higher in som (26.60%) than digloli and soalu (23.65% and 16.52%, respectively). Dutta *et al.* (1997) also reported similar results. The content of the constituent was significantly higher in autumn (22.97%) than spring (21.54%). The reason of increase in crude fibre content of leaves in autumn season more than in spring season may be attributed to the fact that as the plants grow, cell wall tend to thicken and become higher in cellulose, hemicellulose and lignin as compared to the leaves of spring season. The crude fibre content of many vegetables varies with maturity (Ravindran and Ravindran, 1988).

Table II. Mean values of eight biochemical constituents of different food plants (Pooled data of 2 seasons).

Tableau II. Valeurs moyennes pour huit constituants biochimiques de différentes plantes hôtes (Données regroupées pour 2 saisons).

Food plants	Moisture (%)	Crude Fibre (%)	Crude protein	Total soluble sugars	Reducing sugars	Starch (%)	Crude fat	β -sitosterol (%)
<i>Plantes hôtes</i>	<i>Humidité (%)</i>	<i>Fibres brutes (%)</i>	<i>Protéines brutes (%)</i>	<i>Sucres solubles totaux (%)</i>	<i>Sucres réducteurs (%)</i>	<i>Amidon (%)</i>	<i>Graisses brutes (%)</i>	
Som	66.89c	26.60a	15.32a	5.09a	2.41a	5.87c	7.92a	0.92a
Soalu	74.73a	16.52c	13.42b	4.01b	2.03b	7.59b	5.43b	0.58b
Digloli	70.69b	23.65b	9.46c	3.45c	1.82c	8.04a	5.43b	0.47c
Food plants S. Ed ($\pm$)	0.53	0.26	0.42	0.16	0.08	0.15	0.11	0.02
<i>Plantes hôtes</i>								
CD _{0.05}	1.15	0.56	0.91	0.35	0.18	0.33	0.23	0.05
Season/Saison S. Ed ($\pm$)	0.43	0.21	0.34	0.13	0.07	0.13	0.09	0.02
CD _{0.05}	0.94	0.45	0.74	0.28	0.15	0.27	0.19	0.04
Interaction S. Ed ($\pm$)	0.75	0.36	0.59	0.23	0.12	0.22	0.15	0.03
	1.62	0.79	1.29	0.49	0.26	0.47	0.33	0.07

Figures with any common alphabet does not differ significantly./ Les chiffres avec n'importe quelle lettre en commun ne diffèrent pas de manière significative.

Table III. Pooled average values of settling percentage, moulting ratio, weight of 100 larvae and eight biochemical constituents of different food plants in two rearing seasons.

Tableau III. Valeurs moyennes regroupées pour le pourcentage de fixation, le taux de mue, le poids de 100 larves et huit constituants biochimiques de différentes plantes hôtes pendant deux saisons d'élevage.

Parameters	Spring	Autumn	S. Ed(±)	CD _{0.05}
Paramètres	Printemps	Automne		
Settling percent (1 st instar)	34.29a	34.23a	1.22	2.66
Pourcentage de fixation (1 ^{er} âge)				
Settling percent (2 nd instar)	34.81a	34.72a	1.10	2.40
Pourcentage de fixation (2 ^{ème} âge)				
Moulting ratio (1 st instar) / Taux de mue (1 ^{er} âge)	68.17a	71.28a	1.93	4.21
Moulting ratio (2 nd instar) / Taux de mue (2 ^{ème} âge)	69.32b	76.98a	2.04	4.44
Wt. of 100 larvae (1 st instar)	5.28a	5.16a	0.39	0.84
Poids de 100 larves (1 ^{er} âge)				
Wt. of 100 larvae (2 nd instar)	11.66a	12.23a	0.71	1.55
Poids de 100 larves (2 ^{ème} âge)				
Moisture (%) / % d'humidité	79.83a	61.71b	0.43	0.94
Crude fibre (%) / Fibres brutes (%)	21.54b	22.97a	0.21	0.45
Crude protein (%) / Protéines brutes (%)	12.11b	13.35a	0.34	0.74
Total soluble sugars (%) / Sucres solubles totaux (%)	3.81b	4.55a	0.13	0.28
Reducing sugars (%) / Sucres réducteurs (%)	1.86b	2.31a	0.07	0.15
Starch (%) / Amidon (%)	6.52b	7.81a	0.13	0.27
Crude fat (%) / Graisses brutes (%)	5.68b	6.84a	0.09	0.19
β-sitosterol(%)	0.59b	0.71a	0.02	0.04

Figures with any common alphabet does not differ significantly. / Les chiffres avec des lettres en commun ne diffèrent pas de manière significative.

Fukuda *et al.* (1959) and Takeuchi (1960) have emphasized the role of protein in silkworm nutrition. In our present investigation, significantly higher leaf protein content was estimated in the leaves of som (15.32%) followed by soalu (13.42%) and digloti (9.46%). Dutta *et al.* (1997) reported 12.25%, 10.36% and 7.05% protein content in som, soalu and digloti leaves, respectively.

Carbohydrates particularly soluble sugars and reducing sugars are very important for growth of silkworms. These are utilized by the silkworm as energy source and for synthesis of lipids and amino acids. Banerjee *et al.*, (1993) reported 10.60%-15.10% total carbohydrate in the food plants of temperate tasar silkworm *Antheraea proylei* J. Dutta *et al.*, (1997) reported 3.29% to 4.63% soluble sugars and 1.89% to 2.56% reducing sugar in the leaves of different food plants of muga silkworm. Similar findings are also found in our present investigation. Total soluble sugar and reducing sugar were significantly higher in som leaves (5.09% and 2.41%, respectively) compared to that of soalu and digloti leaves. But starch content was significantly higher in digloti leaves (8.04%) than in soalu (7.59%) and som leaves (5.87%).

Table IV. Correlation coefficients for moulting ratio and larval weight with biochemical parameters.

Tableau IV. Coefficients de corrélation pour le taux de mue et le poids larvaire avec les paramètres biochimiques.

Parameters <i>Paramètres</i>	Larval instars <i>Âges larvaires</i>	Moisture <i>Humidité</i>	Crude Fibre <i>Fibres brutes</i>	Crude protein <i>Protéines brutes</i>	Total soluble sugars <i>Sucres solubles totaux</i>	Reducing sugars <i>Sucres réducteurs</i>	Starch <i>Amidon</i>	Crude fat <i>Graisses brutes</i>	β -sitosterol
Moulting Ratio <i>Taux de mue</i>	1 st 2 nd	-.341 -.590**	0.379 0.650**	0.855** 0.734**	0.828** 0.816**	-.0665** 0.767**	-.547* -.410	0.793** 0.908**	0.900** 0.887**
Larval Weight <i>Poids larvaire</i>	1 st 2 nd	0.039 0.088	-.321 -.739**	0.482* 0.164	0.413 -.017	0.269 -0.018	-.379 0.178	0.192 -.266	0.391 -.101

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

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

Fats or lipids are the reserved energy source as these are exhausted only during fasting. The total fat content in the present study was significantly the highest in som leaves (7.92%) over soalu (5.43%) and digloti (5.43%) which was in conformity with the findings of Hazarika *et al.* (1995a) and Dutta *et al.* (1997).

Hamamura *et al.* (1961) reported that a lipid soluble factor known as β -sitosterol, present in the leaves of mulberry accelerates larval biting action. A wide variation in β -sitosterol content was observed in the leaves of muga food plants taken in the present investigation. It ranged from 0.47% in digloti to 0.92% in som leaves.

In mulberry silkworm, leaf moisture content and leaf protein are reported to have positive influence on the growth of silkworm larvae (Narayanaprakash *et al.*, 1985; Chaluvachari and Bongale, 1994; Paul *et al.*, 1992). Friend (1958) reported that early larval instars of phytophagous insect *Phelera mublalis* required low sugar and high protein diet and later instars required high sugar and high protein diet for better larval growth. In our present findings, high larval weight in soalu may be explained by high moisture and low crude fibre content in its leaves. But unlike mulberry silkworm, muga silkworm showed better moulting response with leaves having lower moisture content. Higher moulting response in som might be due to cumulative effects of higher levels of leaf protein, total soluble sugars, reducing sugars, crude fat and β -sitosterol and low level of starch compared to the other two food plants.

Thus from the present investigation, it may be inferred that som leaves are most preferred by the muga silkworm and higher moulting responses shown by the insect might be due to better quality of som leaves as indicated by higher levels of biochemical constituents studied compared to the other food plants.

REFERENCES:

- ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS (A. O. A. C.) (1970) Official Methods of Analysis (11th edition), Washington D. C., pp. 34-58.
- BANERJEE, N.D., CHOUDHURY, S.K., SINHA, U.S.P. & BRAHMACHARI B.,N. (1993) Studies on the foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm *Antheraea proylei* Jolly. Indian J. Seric., 32(2), 228-230.
- BONGALE U. D., CHALUVACHARI G., LINGAIAH RAO B. V. N. & MALLIKARJUNAPPA R. S. (1993) Leaf quality evaluation of mulberry gardens in Karnataka. Trends in Life Sciences (India), 8(1), 33-37.
- BORDOLOI S. & HAZARIKA L. K. (1998) Response of Muga silkworm *Antheraea assama* to host quality. Entomon 23(2), 111-115.
- CHALUVACHARI G. & BONGALE U. D. (1994) Leaf quality evaluation of selected mulberry genotypes by biochemical and bioassay studies. Proc. Conf. On Cytol. And Genet., 4, 121-124.
- CHALUVACHARI & BONGALE U. D. (1996) Bio-assay moulting response of silk worm *Bombyx mori* L. in relation to leaf nutritive constituents in mulberry (*Morus spp.*) genotypes. Indian J. Seric. 35(2), 160-162.
- CHAUDHURY S. N. (1982) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture, Govt. of Assam, India, p. 1-178.
- DUTTA L. C., KALITA M. N. & SARKAR C. R. (1997) Foliar constituents of the food plants of muga silk worm *Antheraea assama* Westwood. Indian J. Seric. 36(1), 85-86.
- FUKUDA T., SUDA M., MATSUDA M., MAYASHI T., KUROSO T., HORIUSHI Y. & FLORRIN M. (1959) Formation of the silk protein during the growth of the silkworm. Biochem., 12, 90-112.
- FOLCH J., LESS M. & STANLEY G. H. S. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226, 497-509.
- FRIEND W. G. (1958) Nutritional requirements of polyphagous insects. Annu. Rev. Entomol. 3, 57-73.
- HAMAMURA Y., HAYASHIYA K., NAITO K. (1961) Food selection by silkworm larvae, *Bombyx mori* L. β -sitosterol as one of the biting factors. Nature, 190, 880-881.
- HAZARIKA L. K., KATAKY A., KATAKY J. C. S., HAZARIKA. A. K. & HAZARIKA J. (1995a) Fats and fatty acid composition of muga silkworm and its host plants. J. Assam Sci. Soc. 37(1), 45-50.
- HAZARIKA R. L., SEN P., BHATTACHARYA S., DEKA P. C. & BARUAH J. N. (1995b) Determination of quality of *Machilus bombycina* for rearing *Antheraea assama* Westwood. Indian J. Seric., 34(1), 74-75.
- ITO T. (1967). Nutritional requirements of the silkworm *Bombyx mori*. Proc. Jpn. Acad., 43, 57-61.
- IWANARI Y. & OHNO Y. (1969) Rearing experiments of silkworms on the artificial diets composed mainly of the mulberry leaf powder harvested on the late autumnal and thereafter season. J. Seric. Sci. Jpn., 38(4), 307-315.
- JOLLY M. S. & DANDIN S. B. (1986) Collection, conservation and evaluation of mulberry (*Morus spp.*) Germplasm. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India. pp. 44.
- KATAYAMA M., HOLL C. T., CHEW N. C., HIROTO T., KIRIBUCHI T., FANACHASI S. (1974). Agric. Biol. Chem., 38, 1961.
- KRISHNASWAMI S., NOAMANI M. K. & ASAN M. (1970) Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon production. Part I. Quality differences due to varieties. Indian J. Seric., 9(1), 1-10.
- NARAYANA PRAKASH M., PERIASWAMY K. & RADHAKRISHNAN S. (1985) Effect of dietary water content on food utilization and silk production in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Indian J. Seric., 24(1), 12-17.
- PARPIEV B. A. (1968) Water metabolism in silkworm fed with a different mulberry strain changing diet. Shelk, 39, 15-17.
- PAUL D. C., SUBBA RAO G. & DEB D. C. (1992) Impact of dietary moisture on nutritional indices and growth of *Bombyx mori* and concomitant larval duration. J. Insect. Physiol., 38(3), 229-235.

- PETKOV M. & MIRCHENA D. (1979) The composition and digestibility of nutrients in leaves of different mulberry varieties in silkworm trials, summer and autumn silkworm feeding. *Zhivotnov D Nauki*, 16(4), 113-117.
- RAVINDRAN G., RAVINDRAN V. (1988) Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculanta* Crantz) leaves during maturity. *Food Chem.*, 27, 299-309.
- SEITZ A. (1933) *The Macro Lepidoptera of the World*. Alfred Kernen Publishers. Stuttgart, 10 pp.909.
- TAKEUCHI Y. (1960) Ability of silkworm (*Bombyx mori* L.) to recover from malnutrition. *The Silk News Letter*, 5(8), 6-7.
- TAKEUCHI Y. (1961) Studies on the effect of nutrition on the moulting in the silkworm (*Bombyx mori* L.). *Bull. Seric. Exp. Stn.*, 17(1), 83-89.
- WATANABE H. & IMANISHI S. (1980) The effect of the content of certain ingredients in an artificial diet on the susceptibility to virus infection in the silkworm *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 49(5) 404-409.
- WOODD J., BHATIA I. S., CHAKRAVORTY S., CHOUDHURY M. N. D., DEB S. B., ROBERTS E. A. H., ULLAH M. R. (1964) The chemical basis of quality in tea. I. Analysis of freshly plucked shoots. *J. Sci. Food Agric.*, 15, 8-14.
- YADAV G. S., GOSWAMI B. C., SENGUPTA A. K. & PRASAD D. N. (1990) Correlation and regression analysis between cocoon weight and pupa weight of muga silkworm (*Antheraea assama* Westwood) during two commercial crops. *J. Assam Sci. Soc.*, 33(1), 63-69.
- YEM E. W., WILLIS A. J. (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.*, 57, 508.

COMPORTEMENT ALIMENTAIRE ET DE MUE DU VER A SOIE MUGA (*ANTHERAEA ASSAMA* WW.) SUR DIFFERENTES PLANTES HOTES

R. CHAKRAVORTY, K. NEOG, N. SURYANARAYANA* & L. K. HAZARIKA**

Centre for Integrated Sericulture Research, Central Silk Board, Jamuguri, Rowriah, Jorhat – 785 005, Assam, Inde.

Nous avons réalisé une expérience au Centre for Integrated Sericulture Research du Central Silk Board à Jorhat pour étudier le comportement alimentaire préférentiel et de mue du ver à soie muga (*Antheraea assama* Ww. Saturniidae : Lepidoptera) sur Som (*Machilus* (= *Persea*) *bombycina*), Soalu (*Litsaea polyantha*) et Digloti (*Litsaea salicifolia*) au cours du printemps (avril – mai) et de l'automne (octobre – novembre) 2002. On place les vers à soie muga qui viennent d'éclore (dans l'heure) au centre d'un triangle de branches de Som, Soalu et Digloti comprenant 5 à 6 brindilles et au moins 100 feuilles que l'on dispose à 30 cm du centre. On enregistre le pourcentage de fixation et le taux de mue jusqu'au deuxième âge. On réalise aussi cette expérience en utilisant le deuxième âge. Le pourcentage de fixation du premier âge est significativement plus élevé sur Som, suivi respectivement par soalu et digloti quelle que soit la saison. De même, le taux de mue des larves du premier et du deuxième âge est significativement plus élevé sur Som (80,06 % et 84,88 % respectivement). Mais, on enregistre un poids pour cent larves plus élevé pour Soalu aux deux âges (5,99 g et 14,42g respectivement). D'après cela, on peut conclure que Som est la plante hôte préférée. La corrélation entre les paramètres biochimiques et le taux de mue et le poids de 100 larves révèle une corrélation positive entre le pourcentage de mue et tous les paramètres biochimiques sauf la teneur en humidité et en amidon. Le poids des larves du premier âge présente une corrélation positive avec tous les paramètres sauf avec la teneur en fibres brutes et la teneur en amidon tandis qu'on enregistre une faible corrélation négative pour les larves du deuxième âge avec les sucres solubles totaux, les graisses brutes et le β -sitosterol.

INTRODUCTION

Le ver à soie muga (*Antheraea assama* Westwood), le producteur d'une soie jaune doré chatoyante est natif de la vallée du Brahmaputre dans l'Assam en Inde. C'est un représentant de la famille des Saturniidae de l'ordre des Lépidoptères et il a une très grande importance économique en raison de la soie de haute qualité produite par l'insecte. Le ver à soie muga est un insecte polyphage, semi-domestiqué, et normalement polyvoltin ; il donne cinq à six générations dans l'année (Seitz, 1933 ; Choudhury, 1982). Som (*Machilus* (= *Persea*) *bombycina*) et Soalu (*Litsea polyantha*) deux plantes à feuilles persistantes sont considérées comme les meilleures plantes hôtes pour l'élevage du ver à soie muga. Sur les cinq générations du ver à soie muga deux sont populaires comme générations de production et sont localement connues sous le nom de récoltes Katiya (automne) et Jethua

* Central Muga & Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat – 785 005, Assam, Inde.

** Department of Entomology, Assam Agricultural University, Jorhat – 785013.

(printemps). Les conditions climatiques dominantes pendant ces périodes dans l'Assam sont très favorables à l'élevage du muga (Yadav et coll., 1990).

L'élevage chawki (des jeunes larves) est considéré comme un aspect vital de la sériciculture mûrier puisqu'il a une répercussion sur la survie des vers au dernier stade, leur santé, leur robustesse et la qualité des récoltes de cocons (Watanabe et Imanishi, 1980). La croissance et le développement du ver à soie *Bombyx mori* L. et les rendements en récoltes de cocons sont très influencés par les différences variétales et la qualité nutritionnelle de la feuille de mûrier (*Morus* spp.) données en nourriture (Parpiev, 1968 ; Krishnaswami et coll., 1970 ; Petkov et Mirchena, 1979). Les constituants biochimiques des feuilles pourraient être les facteurs responsables de la sélection préférentielle des plantes hôtes par le ver à soie muga *A. assama* (Hazarika et coll., 1995b ; Bordoloi et Hazarika, 1998). Un certain nombre d'essais a été fait sur l'évaluation biologique du taux de mue du ver à soie du mûrier (*B. mori* L.) par rapport aux constituants nutritionnels de la feuille (Bongale et coll., 1993 ; Chaluvachari et Bongale 1994, 1996). Mais on n'a pas rapporté de telles études concernant la réponse de mue du ver à soie muga par rapport aux constituants nutritifs de la feuille de ses différentes plantes hôtes. Ainsi, pour la première fois, nous avons essayé de distinguer les plantes hôtes d'après la préférence alimentaire des larves muga du premier et du deuxième âge et de corréler ensuite la réponse de mue à divers constituants biochimiques.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience est réalisée dans un laboratoire du *Centre for Integrated Sericulture Research* de Titabor à Jorhat dans l'Assam en Inde pendant le printemps (avril-mai) et l'automne (octobre-novembre) 2002. Les vers à soie muga venant d'éclore sont placés au centre d'un triangle de branches de Som, Soalu et Digloti comprenant 5 à 6 brindilles disposés à 30 cm du centre. On enregistre le pourcentage de fixation des larves après un mouvement complet des larves vers les différentes branches. L'expérience est répétée au deuxième âge. On réalise simultanément le test d'évaluation biologique de la mue jusqu'à la seconde mue en suivant la méthode d'alimentation continue (Takeuchi, 1961 ; Iwanari et Ohno, 1969). On enregistre le poids de 100 larves de chaque âge quand on constate que 20 à 25 % des larves se fixent pour la mue. On estime huit paramètres biochimiques à savoir l'humidité, les fibres brutes, les protéines brutes, les sucres solubles totaux, les sucres réducteurs, l'amidon, les graisses brutes et le β -sitosterol des feuilles tendres et matures de toutes les plantes hôtes en suivant les procédures habituelles. On détermine tous les constituants biochimiques des feuilles sauf l'humidité sur base sèche. L'humidité, les graisses brutes et les fibres brutes sont évaluées en suivant la méthode d'A. O. A. C. (1970). On suit la méthode de Kjeldhal d'après la description de Wood et coll., (1964) pour la détermination de l'azote total à partir de laquelle on calcule les protéines brutes en multipliant la valeur estimée de la teneur en azote par 6,25. On suit la méthode Anthrone (Yem et Willis, 1954) pour estimer les sucres réducteurs, les sucres solubles totaux et l'amidon. On estime le β -sitosterol en suivant la méthode de Katayama et coll., (1974). On regroupe les données pour deux récoltes du printemps et de l'automne 2002 pour les trois plantes hôtes et on calcule la corrélation des paramètres qualitatifs de la feuille avec le taux de mue et le poids larvaire pendant la 1^{ère} et la 2^{ème} mue.

RESULTATS ET DISCUSSION

Pourcentage de fixation :

L'analyse de variance pour le pourcentage de fixation et le poids des premier et deuxième âges est présentée dans le Tableau I. Elle révèle que le pourcentage de fixation chez toutes les plantes hôtes varie de manière significative quelles que soient les saisons pendant les deux âges. Les larves du premier âge nourries sur Som présentent le pourcentage de fixation le plus élevé (50,25 %) suivi par les vers nourris sur Soalu (28,81 %). Les vers nourris sur les feuilles de Digloti présentent un

pourcentage de fixation significativement inférieur (20,94 %) On observe une tendance similaire avec les larves du deuxième âge. Ici, Som présente le pourcentage de fixation le plus élevé (48,01 %) suivi par Soalu (27,79 %) et Digloti (24,20 %).

Taux de mue :

Le taux de mue des larves est significativement plus élevé avec Som à la fois avec les larves du 1^{er} et du 2^{ème} âge (respectivement 80,60 % et 84,88 %) par rapport à Soalu (63,30 % et 67,48 %) et Digloti (60,28 % et 67,09 %). Le taux de mue est plus élevé à l'automne qu'au printemps (Tableau III).

Poids de 100 larves :

Le poids des larves du premier âge nourries sur Som et Soalu (respectivement 5,55 g et 5,94 g) est significativement plus élevé par comparaison à celui de celles nourries sur Digloti (4,16 g). Mais au deuxième âge, les vers gagnent un poids significatif quand on les nourrit sur les feuilles de Soalu (14,42 g) par comparaison aux feuilles de Som et de Digloti (respectivement 10,77 g et 10,66 g) (Tableau I).

Composition biochimique des différentes plantes hôtes :

Les données présentées dans les Tableaux II et III donnent les valeurs moyennes pour huit constituants biochimiques différents pendant deux saisons d'élevage. Tous les paramètres biochimiques diffèrent de manière significative entre eux pour toutes les plantes hôtes à l'étude. Tous les constituants à l'exception de l'humidité et de l'amidon (66,89 % et 5,87 % respectivement) sont significativement plus élevés chez Som par comparaison à ceux des feuilles de Soalu et de Digloti.

Les données regroupées sur les trois plantes hôtes à l'étude révèlent une corrélation significative (Tableau IV) plus élevée (valeurs r de 0,5 et plus) entre le taux de mue et les protéines brutes, les sucres solubles totaux, les sucres réducteurs et le B-sitosterol. On enregistre des corrélations négatives d'un ordre supérieur entre le taux de mue et l'amidon, et entre l'humidité, le poids corporel et les fibres brutes. Il existe de faibles corrélations positives entre le poids corporel larvaire au premier âge et les sucres solubles totaux, les sucres réducteurs, les graisses brutes et le B-sitosterol tandis qu'il existe des corrélations négatives entre le poids corporel larvaire au premier âge et les fibres brutes et l'amidon. Au deuxième âge, on observe de faibles corrélations positives pour le poids larvaire et les protéines brutes et l'amidon tandis qu'on observe des corrélations négatives entre le poids larvaire corporel et les sucres solubles totaux, les sucres réducteurs, les graisses brutes et le B-sitosterol.

L'humidité agit comme un stimulant olfactif et gustatif (Ito, 1967). On sait que l'humidité de la feuille augmente la quantité d'azote et la capacité de digestion du ver à soie. Pour l'élevage du ver à soie du mûrier, on considère que les variétés qui contiennent 70 % d'humidité ou plus sont optimum (Jolly et Dandin, 1986). Dans cette étude, la teneur en humidité des feuilles des différentes plantes hôtes varie de 66,89 % chez Som à 74,73 % chez Soalu (Tableau II). D'après les valeurs moyennes regroupées (Tableau III), il s'avère que la teneur en humidité de la feuille des plantes hôtes est plus élevée au printemps (78,83 %) qu'à l'automne (61,71 %).

On remarque une différence significative pour la teneur en fibres brutes dans les feuilles des différentes plantes hôtes prises en compte dans cette étude. Dans l'ensemble, la teneur moyenne en fibres brutes des feuilles est plus élevée quelle que soit la saison chez Som (26,60 %) que chez Digloti et Soalu (respectivement, 23,65 % et 16,52 %). Dutta et coll., (1997) ont rapporté des résultats similaires. La teneur en constituants est significativement plus élevée à l'automne (22,97 %) qu'au printemps (21,54 %). La raison de l'augmentation de la teneur en fibres brutes pendant l'automne par rapport au printemps pourrait être attribuée au fait qu'alors que la plante grandit la paroi cellulaire tend à s'épaissir et elle contient plus de cellulose, d'hémicellulose et de lignine par comparaison aux feuilles du printemps. La teneur en fibres brutes de nombreux végétaux varie avec la maturité (Ravindran et Ravindran, 1988).

Fukuda et coll., (1959) et Takeuchi (1960) ont attiré l'attention sur le rôle des protéines dans la nutrition du ver à soie. Dans notre étude, nous observons une teneur en protéines de la feuille plus élevée dans les feuilles de Som (15,32 %) suivi par Soalu (13,42 %) et Digloti (9,46 %). Dutta et coll., (1997) ont rapporté une teneur en protéines de respectivement 12,25 % ; 10,36 % et 7,05 % dans les feuilles de Som, Soalu et digloti.

Les hydrates de carbone en particulier les sucres solubles et les sucres réducteurs sont très importants pour la croissance des vers à soie. Ils sont utilisés par le ver à soie comme une source d'énergie et pour la synthèse des lipides et des acides aminés. Banerjee et coll., (1993) ont trouvé 10,60 % à 15,10 % d'hydrates de carbone totaux dans les plantes hôtes du ver à soie tassar tempéré *Antheraea proylei* J. Dutta et coll., (1997) ont rapporté 3,29 % à 4,63 % de sucres solubles et 1,89 % à 2,56 % de sucres réducteurs dans les feuilles de différentes plantes hôtes du ver à soie muga. Nous avons fait les mêmes observations dans notre étude. Les sucres solubles totaux et les sucres réducteurs sont significativement plus élevés dans les feuilles de Som (5,09 % et 2,41 % respectivement) que dans les feuilles de Soalu et de Digloti. Mais la teneur en amidon est significativement plus élevée dans les feuilles de Digloti (8,04 %) que dans les feuilles de Soalu (7,59 %) et de Som.

Les graisses ou les lipides sont une réserve d'énergie car elles ne s'épuisent que pendant le jeûne. La teneur totale en lipides dans cette étude est significativement la plus élevée dans les feuilles de Som (7,92 %) par rapport à celle de Soalu (5,43 %) et de Digloti (5,43 %) ce qui confirme les observations d'Hazarika et coll., (1995a) et de Dutta et coll., (1997).

Hamamura et coll., (1961) ont rapporté qu'un facteur soluble lipidique connu sous le nom de β -sitosterol, présent dans les feuilles de mûrier accélère l'action de morsure de la larve. On observe une grande variation de la teneur en β -sitosterol dans les feuilles des plantes hôtes du muga prises en compte dans cette étude. Elle est comprise entre 0,47 % pour les feuilles de Digloti et 0,92 % pour les feuilles de Som.

Chez le ver à soie du mûrier, on rapporte que la teneur en humidité et en protéines de la feuille a une influence positive sur la croissance des larves de ver à soie (Narayanaprakash et coll., 1985 ; Chaluvachari et Bongale, 1994 ; Paul et coll., 1992). Friend (1958) a rapporté que les premiers âges larvaires de l'insecte phytophage *Phelera mublalis* ont besoin d'un régime alimentaire à base d'une faible quantité de sucres et d'une quantité élevée de protéines et les derniers âges ont besoin de beaucoup de sucre et de beaucoup de protéines pour une meilleure croissance larvaire. Dans notre étude, on pourrait expliquer le poids larvaire élevé obtenu avec soalu par la teneur élevée en humidité et faible en fibres brutes des feuilles. Mais à l'inverse du ver à soie du mûrier, le ver à soie muga présente une meilleure réponse de muc avec les feuilles qui ont une teneur plus faible en humidité. La réponse de mue plus élevée avec Som pourrait être due aux effets cumulatifs des niveaux plus élevés en protéines de la feuille, en sucres solubles totaux, en sucres réducteurs, en graisses brutes et en β -sitosterol et au faible niveau en amidon par comparaison aux deux autres plantes hôtes.

Ainsi, nous pouvons donc conclure d'après cette étude que le ver à soie muga préfère les feuilles de som et les réponses de muc plus élevées de l'insecte pourraient être dues à la meilleure qualité des feuilles de Som comme l'indiquent les niveaux plus élevés dans les constituants biochimiques étudiés par comparaison aux autres plantes hôtes.

SALIENT GENETICAL FEATURES OF A POLYMORPHIC VARIANT VIS-À-VIS THE PREVALENT MUGA SILKWORM (*ANTHRAEA ASSAMA* WW.)

MONICA MUKHOPADHYAY CHAUDHURI

Assistant Director, Muga Seed Development Project, Central Silk Board, Ministry of Textile,
Govt. of India, Guwahati 781005, India

*The semi wild muga silkworm- **Antheraea assama** Ww. (Lepidoptera: Saturniidae) exhibits a fair amount of variation in its natural population. Presumably, the available variety for present day commercial exploitation is in general a conglomeration of different genetic linkage groups.*

*Though colour polymorphism in muga silkworm has been a known phenomenon for a long time, a blue variant of otherwise prevalent green muga was reported to have gone on extinction more than hundred years ago. But a phenotype having blue larval body colour surfaced among the prevalent semi wild muga silkworm having green larval body during rearing of basic seed stock under Muga Seed Development Project, India. Successive rearing through 21 generations along with the prevalent green phenotypes as check on **Pearsea bombycina** K. (Lauraceae) showed that each of the populations had wide range of variability within and between themselves in respect of the traits of economic importance but the mean values did not differ widely except for the cocoon yield, cocoon utilisation and disease free laying (dfl) production ratios. The average quantitative expressions of important rearing parameters of both the phenotypes followed the same trend under seasonal influence. Both the phenotypes, which were maintained as inbreds through mating between respective sibs-, half sibs, quarter-sibs and so on within a very limited population size did not show any definite trend of degradation with respect to the economic traits studied. However, the increase and decrease of the values of fecundity cocoon and egg yield and shell weight might be the direct influences of environmental and human factors. The components of variances indicated that even if **Antheraea assama** has a fairly narrow genetic base, surfacing of blue phenotype has added variability to muga silkworm germplasm, which might pave the way for future improvement programme.*

Keywords Muga silkworm, colour polymorphism, blue variant, components of genotypic and phenotypic variances, heritability, genetic advance.

INTRODUCTION

Of the four natural silks commercially produced and traded in India to cater domestic markets as well as for export abroad, the most expensive 'muga' silk stands out on account of its characteristic natural golden colour, sheen, durability and strength. This premium silk is produced by the semi wild silkworm - *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera: Saturniidae). The species under commercial exploitation is polyvoltine resulting in six consecutive broods round the year.

A. assama exhibits a fair amount of variation in its natural population and whatever available today for commercial exploitation is a pool of limited genetic diversity imparted by linkage groups and hence hardly exhibits hybrid vigour when breeds from different seed stocks are inter-crossed

(Thangavellu, 2000). The necessity to utilize the genetic variability of available natural resources has been felt for a long time.

The growth of mulberry silk industry owes its great success to rich genetic stocks of silkworm races with distinct racial characters that greatly paved the way for evolving superior silkworm hybrids of commercial importance. But in absence of defined races of muga silkworm, no programme could be taken up either to exploit the hybrid vigour or to improve the economic characters through conventional breeding.

Though Chowdhury (1981) reported that blue muga larvae existed in the past but became extinct more than hundred years ago, colour polymorphism in muga silkworm has been a known phenomenon for a long time (Thangavelu *et al.* 1984; Thangavellu and Bhagowati, 1985). But the potential utilization of existence of such genetic variants was not investigated systemically before, nor were there any reported success in maintaining them for many generations as separate entities either.

A phenotype having blue larval body colour surfaced among the prevalent semi wild muga silkworm having green larval body in the ratio of 1: 1764 and 1:1850 during autumn rearing of the great grand parent silkworm seed crop in 2 different sites. The seed stock was raised at P-4 basic seed unit, Tura (25° 30' N: 90° 16' E; 478 mt above mean sea level) under Muga Seed Development Project. The rearing venue of the seed stock was situated at the vicinity of the natural abode of muga silkworm. Since then blue larvae have been observed to be surfacing off and on during winter seasons among the green larvae, but get completely masked within subsequent 1 or 2 generation (s) if not isolated and the larval population appears all green.

The blue variant was isolated for the first time in 1995 during autumn (September-October) and reared as winter brood (November-January) with the objective that a genetic variant may add to new dimension towards the improvement of muga germplasm. The first report on investigative rearing of 12 generations *in situ* since isolation showed different values of the quantitative traits in comparison to those of prevalent ones (Chaudhuri *et al.* 1998). In the present context of understanding, the study reported herein was carried out to evaluate the extent of variability pertaining to the life cycle traits that entails these 2 phenotypes.

MATERIALS AND METHODS

The variant phenotype of muga silkworms having blue larval body colour was isolated from autumn brood and reared outdoor along with the prevalent green phenotypes as check on *Pearsea bombycina* K. (Lauraceae) for a total of successive 21 crops from winter, 1995 till summer crop of 1999 in a randomised block design as per the local yearly crop rearing schedule presented in Table I. Each batch of muga silkworms was allowed to spin cocoons indoor on traditional mountages comprising dried leafy branches of host plants. Cocoons were harvested and processed separately for egg production towards raising next generation. Comparative data on the values of fecundity, hatching %, weights of mature male and female larvae, larval duration, effective rate of rearing, seed cocoon to total cocoon ratio, weights of male and female cocoons, shells and pupae, average shell weight, pupal duration, cocoon recovery per disease free laying reared, cocoon utilization towards production of a disease free laying, ratio of male to female moths emerged and disease free laying (dfl) produced per disease free laying reared were recorded separately for each population.

Mean estimates of rearing performance, variance analyses and 't' tests were carried out using SPSS 10.0 computer programme, while the components of variances were derived following Falconer (1981) from the analyses of variance as σ_g^2 =genotypic variance, σ_e^2 =error variance and σ_p^2 =phenotypic variance. Using these, further components were computed as given below:

$$\text{Genotypic coefficient of variation} = \frac{\sqrt{\sigma_g^2 \times 100}}{\mu}$$

Phenotypic coefficient of variation =

$$\frac{\sqrt{\sigma_p^2 \times 100}}{\mu}$$

$$\text{Heritability (H)} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}$$

Genetic advance = $K \times H \times \sigma_p$ where K = standardised selection differential at 5% selection intensity = 2.06.

RESULTS

The comparative mean estimates of life cycle traits of blue and green muga phenotypes are enumerated in Table II. The mean values of the economic parameters did not differ widely except for the cocoon yield, cocoon utilisation and disease free laying (dfl) production ratios. In blue muga, mean cocoon production per disease free laying reared was greater than that in prevalent green muga (72.2 vis a vis 68.3) but blue muga was less efficient in terms of cocoon utilisation towards production of a dfl as well as dfl yield consequent upon rearing of a dfl. In case of blue muga on an average 6.9 cocoons were required to produce a dfl and 21.7 dfls were produced per dfl reared as against 4.4 cocoons and 24.6 dfls in case of green muga.

Nevertheless, Table III reveals that each of the populations showed wide range of variability within themselves in respect of the traits of economic importance as evident from the highly significant 't' values. While comparing the respective means of the traits of both the populations, assuming equal variances in an independent 2-samples 't' test, absence of '0' in the confidence interval of mean differences indicates that the differences between blue and green populations were significant.

Since the outdoor-rearing was conducted in succession throughout the year, seasonal variations created six distinct rearing environments in a year as are seen from Table I. The comparative rearing performances of blue and green phenotypes during different seasons of the year are graphically presented in Fig.1 to 3. The average quantitative expressions of important rearing parameters varied greatly under seasonal influence as outlined below and almost all the traits of both the phenotypes followed the same trend as was enunciated in the curves.

Fecundity :

The dfls reared had an alternative high and low fecundity during different season in general (Fig.1, primary Y-axis). In spring rearing, the fecundity was below the average (152 ± 8.5 and $8.7/\text{dfl}$) in both the populations (Table I), it hit the lowest during summer as 98 in blue and 106 in green, then shoot high during monsoon. In case of prevalent green muga, the highest fecundity of 184/ disease free laying was observed during monsoon season. During the rest of the year the fecundity varied alternately within a range from 156 to 185 and the highest fecundity was observed as 185/disease free laying in blue muga during autumn.

Hatching percentage:

In blue muga good per cent hatching close to or higher than the mean (86.8 ± 2.1) was observed in all the seasons other than in summer when it was 81% (Fig.1, primary Y-axis). Hatching percents

for prevalent green muga were higher during spring, monsoon and winter, being 92%, 90% and 93% than the mean value of 86.3 ± 2.1 while it was very low in summer brood (76%).

Larval duration:

Seasonal variation was very much pronounced regarding this character other than between monsoon and late- monsoon broods in general. These were also seasons for shortest span (23 days) of larvae for the two populations while longest period (40 and 44 days) was, as expected, during winter (Fig.1, secondary Y-axis).

Table 1. Average climatic condition during different seasons of muga silkworm rearing in a year.

Tableau 1. Conditions climatiques moyennes pendant différentes saisons d'élevage du ver à soie muga sur une année.

(Location : Latitude $25^{\circ} 30' N$ and Longitude $90^{\circ} 16' E$; 478 m above sea level).

(Situation : Latitude $25^{\circ} 30' N$ et longitude $90^{\circ} 16' E$; 478 m au-dessus du niveau de la mer).

Season Crop of rearing	Month	Min Temp.	Max. Temp.	Min. RH%	Max. RH%	Rainfall (mm)	Rainy
Saison Récolte d'élevage	Mois					Précipitations (mm)	Jours de pluie
1 Spring Printemps	February / février	17	23	50.5	74.7	7.8	2
	March / mars	20.3	27.4	49.5	71.6	45	3
2 Summer / Eté	April / avril	22.6	28.8	56.8	78.7	97.3	6
	May / mai	24.3	29.6	66.4	82.6	257.2	13
3 Monsoon Mousson	June / juin	24.6	28.5	75	87.9	498.3	20
	July / juillet	25.1	28.6	79.4	90.2	396.8	17
4 Late monsoon Fin de la mousson	August / août	25.0	28.2	80.6	90.1	374.7	19
5 Autumn Automne	September septembre	24.6	27.8	80.6	90.3	240.2	15
	October / octobre	22.8	27.2	70.9	84.9	205.1	6
6 Winter / Hiver	November / nov.	19.7	24.6	64	80.9	13.9	1
	December / déc.	16.2	21.2	62.9	80.2	10.4	1
	January / janvier	14.1	19.6	59.3	78.6	6.1	1

Table II. Mean estimates of different life cycle parameters in muga silkworm.**Tableau II. Estimations moyennes de différents paramètres du cycle de vie chez le ver à soie muga.**

Parameters <i>Paramètres</i>	Mean $\pm$ SE / Moyenne $\pm$ Ecart type	
	Blue <i>Bleu</i>	Green <i>Vert</i>
Fecundity (No) / <i>Fécondité (Nbre)</i>	152 $\pm$ 8.5	152 $\pm$ 8.7
Hatching (%) / <i>Ecllosion (%)</i>	86.8 $\pm$ 2.1	86.3 $\pm$ 2.1
Male larva wt. (gm) / <i>Pds des larves mâles (g)</i>	6.3 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.2
Female larva wt. (gm) / <i>Pds des larves femelles (g)</i>	8.8 $\pm$ 0.3	9.2 $\pm$ 0.3
Larval duration (day) / <i>Durée larvaire (jours)</i>	31.1 $\pm$ 1.7	31.0 $\pm$ 1.9
Effective rate of rearing (ERR%) <i>Taux effectif d'élevage (% ERR)</i>	50.7 $\pm$ 6.4	50.1 $\pm$ 5.2
Seed cocoon ratio / (Total:seed cocoon) <i>(Total : cocons de grainage)</i>	0.85 $\pm$ 0.05	0.9 $\pm$ 0.03
Male cocoon wt. (g) / <i>Pds des cocons mâles (g)</i>	4.1 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.1
Male shell wt. (g) / <i>Pds de la coque mâle (g)</i>	0.39 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.02
Male pupa wt. (gm) / <i>Pds de la nymphe mâle (g)</i>	3.7 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.1
Female cocoon wt (g) / <i>Pds du cocon femelle (g)</i>	6.6 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.3
Female shell wt (g) / <i>Pds de la coque femelle (g)</i>	0.58 $\pm$ 0.03	0.60 $\pm$ 0.03
Female pupa wt. (g) / <i>Pds de la nymphe femelle (g)</i>	6.02 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.2
Average shell wt (g) / <i>Pds moyen de la coque (g)</i>	0.49 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.02
Shell ratio (%) / <i>Richesse soyeuse (%)</i>	9.06 $\pm$ 0.2	9.1 $\pm$ 0.2
Pupal duration (day) / <i>Durée nymphale (jours)</i>	24.1 $\pm$ 1.7	24.1 $\pm$ 2.2
Cocoon yield (dfl:cocoon) <i>Rendement en cocons (pontes saines : cocons)</i>	72.2 $\pm$ 9.3	68.3 $\pm$ 10.0
Cocoon utilization (Cocoon: dfl) <i>Utilisation de cocons (Cocons : pontes saines)</i>	6.9 $\pm$ 2.1	4.4 $\pm$ 1.3
Sex ratio in moths (male: female) <i>Sex ratio des papillons (mâles : femelles)</i>	1.5 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.2
Dfl yield (dfl:dfl) <i>Rendement en pontes saines (dfl : dfl)</i>	21.7 $\pm$ 4.0	24.6 $\pm$ 4.5

Table III. Results of 't' test.

Tableau III. Résultats du test "t".

Parameters	't' Values (one- sample)		't' (2 independent samples)		
	Blue	Green	t value	95% confidence interval of the difference	
			t	Lower	Upper
			't' (2 échantillons indépendants)		
Paramètres	Valeurs 't' (un échantillon)		valeur t	Intervalle de confiance de la différence à 95 %	
	Bleu	Vert	t	Inférieur	Supérieur
Fecundity (No) / Fécondité (Nbre)	17.86 **	17.48 **	0.01	- 24.42	24.70
Hatching (%) / Ecllosion (%)	41.91 **	40.62 **	0.16	- 5.52	6.47
Larval duration / Durée larvaire	17.94 **	16.32 **	0.02	- 5.153	5.25
ERR (%)	7.98 **	9.59 **	0.08	-15.971	17.25
Seed cocoon ratio (Total:seed cocoon) Ratio de cocons de grainage Total : ratio de grainage	8.84 	34.81 	-0.96 **	- .16 **	5.540E-02
Shell ratio (%) Richesse soyeuse (%)	44.92	56.79 **	-0.15	- .56	0.49
Pupal duration (day) Durée nymphale (jours)	14.26 **	10.87 **	0.00	- 5.64	5.64
Cocoon yield (dfl:cocoon) Rendement en cocons (dfl : cocons)	7.77 **	6.80 **	0.29	- 23.72	31.53
Cocoon utilization (Cocoon:dfl) Utilisation des cocons (Cocons : pontes saines)	3.31	3.47 **	1.03 **	- 2.43	7.44
Sex ratio in moths (male:female) Sexe ratio des papillons (mâles: femelles)	5.89 *	7.66 **	-0.01	- .66	.65
Dfl yield (dfl:dfl) Rendement en pontes saines (dfl : dfl)	537 **	5.48 **	-0.49	- 15.11	9.25

Table IV. Component of variations.

Tableau IV. Composants des variations.

	Genotypic Coefficient of Variation		Phenotypic coefficient of variation		Heritability	
	<i>Coefficient de variation génotypique</i>		<i>Coefficient de variation phénotypique</i>		<i>Héritabilité</i>	
	Blue <i>Bleu</i>	Green <i>Vert</i>	Blue <i>Bleu</i>	Green <i>Vert</i>	Blue <i>Bleu</i>	Green <i>Vert</i>
Fecundity / <i>Fécondité</i>	18.41	15.18	26.47	26.76	0.48	0.32
Hatching / <i>Eclosion</i>	4.14	6.45	10.84	11.51	0.15	0.31
Male larva wt. <i>Pds de la larve mâle</i>	13.91	9.06	17.89	16.16	0.60	0.31
Female larva wt. <i>Pds de la larve femelle</i>	15.34	10.77	17.98	14.05	0.73	0.59
Larval duration / <i>Durée larvaire</i>	24.09	27.63	26.93	29.72	0.80	0.86
Male cocoon wt. <i>Pds du cocon mâle</i>	11.45	6.86	19.10	13.21	0.36	0.27
Male shell wt. <i>Pds de la coque mâle</i>	18.90	11.79	25.82	18.49	0.54	0.41
Male pupa wt./ <i>Pds de la nymphe</i>	10.84	6.23	19.05	12.96	0.32	0.23
Female cocoon wt. <i>Pds du cocon femelle</i>	17.56	9.86	19.11	18.10	0.84	0.30
Female shell wt. <i>Pds de la coque femelle</i>	18.99	17.51	23.04	23.16	0.68	0.57
Female pupa wt. <i>Pds de la nymphe femelle</i>	17.37	8.98	18.99	17.86	0.84	0.25
Pupal duration / <i>Durée nymphale</i>	30.50	42.07	33.88	44.69	0.81	0.89
Cocoon yield <i>Rendement en cocons</i>	6.78	38.92	59.02	68.72	0.01	0.32
Sex ratio in moths <i>Sex ratio des papillons</i>	14.80	23.81	77.54	68.14	0.04	0.16
Dfl production <i>Production de pontes saines</i>	24.12	27.99	85.73	84.07	0.08	0.11

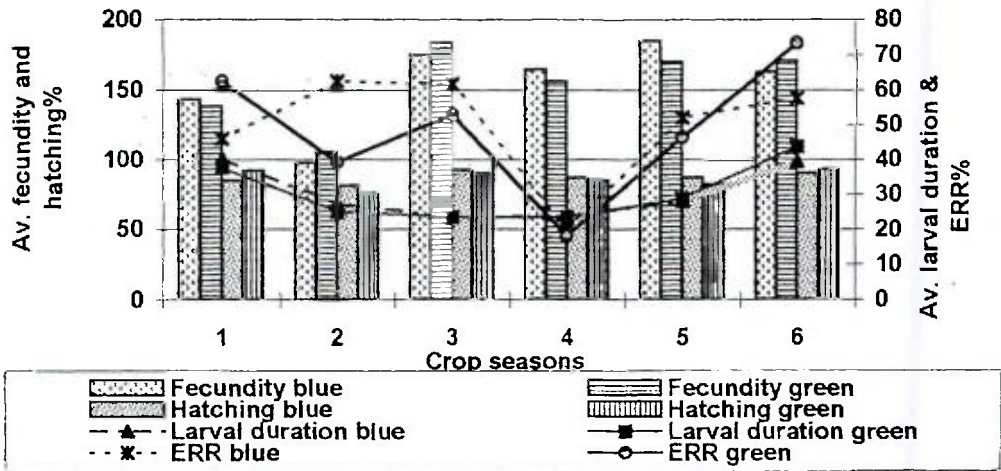


Fig. 1. Comparative rearing performances of variant blue and prevalent green muga silkworms during Different Crop Seasons on an average over the study period.

Fig. 1. Performances d'élevage comparatives du ver à soie muga variant bleu et du dominant vert pendant différentes saisons d'élevage en moyenne pendant la période d'étude.

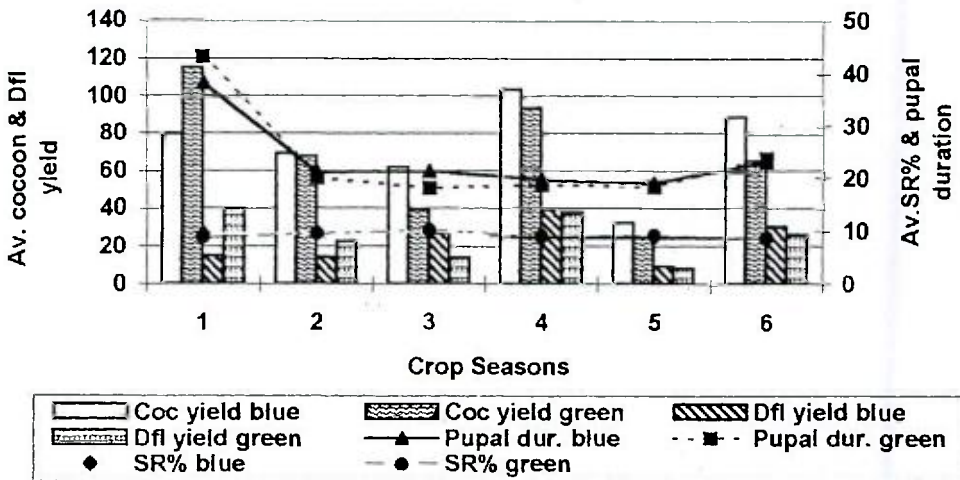


Fig. 2. Comparative rearing performances of variant blue and prevalent green muga silkworms during Different Crop Seasons on an average over the study period.

Fig. 2. Performances d'élevage comparatives des vers à soie muga variant bleu et dominant vert pendant différentes saisons d'élevage en moyenne pendant la période d'étude.

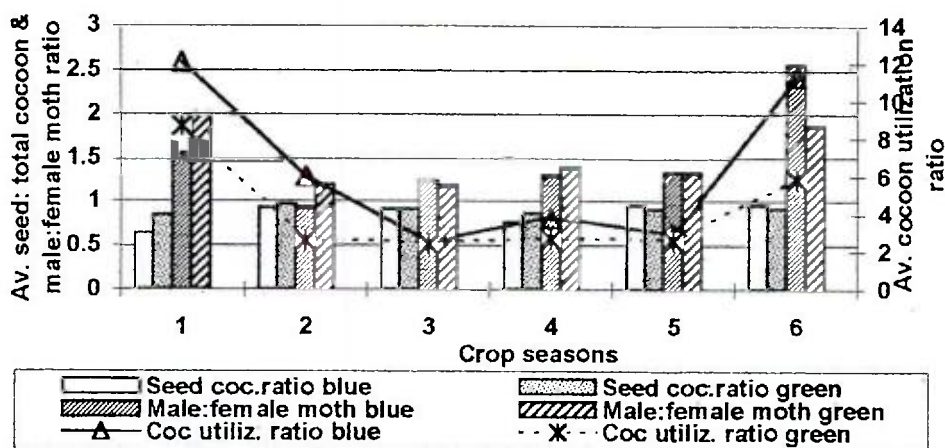


Fig. 3. Comparative Rearing Performances of Variant Blue and Prevalent Green Muga Silkworms during Different Crop Seasons on an average over the study period.

Fig. 3. Performances d'élevage comparatives du ver à soie muga variant bleu et du dominant vert pendant différentes saisons d'élevage en moyenne pendant la période d'étude.

Effective rate of rearing:

Other than spring and summer the values of ERR% in both the phenotypes on an average followed the same trend of the curve (Fig.1, secondary Y-axis). There were not much of differences between the mean values (50.7 ± 6.4 and 50.1 ± 5.2). Good ERR% was observed during summer, monsoon, autumn and winter in respect of blue muga (62.5%, 61.7%, 52.1% and 57.8%) while it was during spring, monsoon, and winter in respect of green muga (62.4%, 53%, and 73.1%). It was the lowest in case of late- monsoon brood in respect of both the populations.

Cocoon yield:

The mean estimates of average cocoon production/ dfl reared in blue muga (72.2 ± 9.3) was greater than that of green muga (68.3 ± 10.0) and the same trend was observed in different seasons throughout the years except in spring. It was from spring rearing, greatest cocoon harvest was resulted in respect of green muga (115 cocoons/ dfl) but in case of blue ones the highest yield of 104 cocoons/ dfl was obtained during late- monsoon rearing (Fig.2, primary Y-axis).

Seed cocoon ratio:

From the total cocoon harvest, seed cocoon proceeds for the next generation were more than the mean ratios (0.85 ± 0.05 and 0.9 ± 0.03 ; Table 1) in the broods of summer, monsoon, autumn and winter in both blue and green muga phenotypes (Fig.3, primary Y-axis). During spring the lowest seed to total cocoon ratios being 0.64 and 0.84 were obtained for blue and green muga populations.

Shell ratio:

Except spring and summer broods average shell ratio percent (SR%) was higher in green muga than that in blue ones (Fig. 2, secondary Y-axis). In spring it was higher (9.31%) in blue muga. During

late-monsoon, autumn and winter less SR% than the mean (9.1 ± 0.2) was noticed in both the populations.

Pupal duration:

Except for spring brood, when the span of pupa stage extended up to 38 and 40 days in blue and green muga respectively, during other seasons it varied between 18 and 24 days (Fig. 2, secondary Y-axis).

Cocoon utilisation ratio:

The number of cocoons required to produce a dfl was optimum (less than 3 cocoons/ dfl) during all the seasons except spring and winter (Fig.3, primary Y-axis) in case of green muga. Seasonal variation of this parameter was more pronounced in blue muga.

Male to female moth ratio:

As expected the same trend was noticed in both the populations with respect to male to female moth emergence ratio (Fig. 3, primary Y-axis).

DFL yield Dfl yield/ dfl reared was a highly fluctuating variable. Though on an average the best yield (40 dfl/dfl) was harvested from green muga of spring brood but good yield was also obtained during late- monsoon and winter. Late- monsoon appeared to be very good for blue muga too in terms of dfl production (39 dfl/dfl) followed by winter and monsoon (Fig. 2, primary Y-axis).

Fig 4 elucidates that there were peaks and falls of the values of 2 most important economic parameters like average shell weight (primary Y axis) and dfl yield/ dfl reared (secondary Y axis) through all the 21 generations among both the phenotypes.

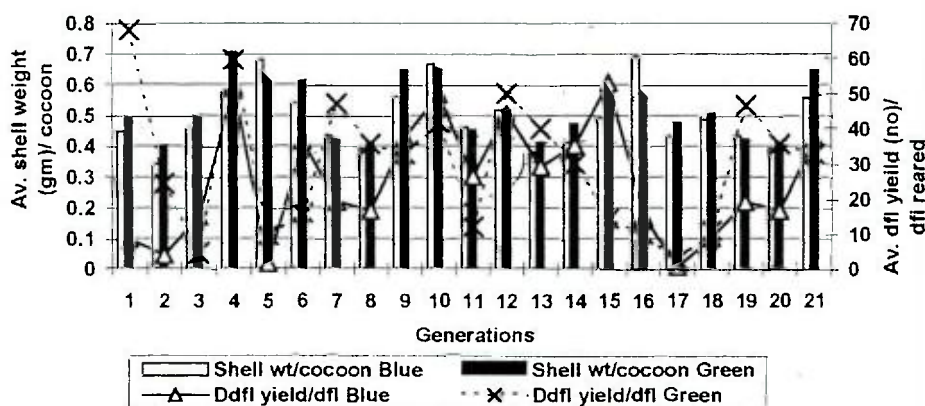


Fig. 4. Important economic parameters of muga silkworm through generations.

Fig. 4. Paramètres économiques importants du ver à soie muga au cours des générations.

Estimates of components of variances are enumerated in Table IV. Phenotypic coefficient of variation in respect of all the traits expressed by both the populations was always higher than the genotypic coefficient of variation. In case of blue muga, the difference between genotypic and phenotypic coefficient of variations for rates of yield of cocoons and dfls as well as male to female moths was very wide, phenotypic coefficient of variation was 3.6 and 8.7 times higher than the genotypic coefficient of variation. This difference was wide for per cent hatching as the phenotypic coefficient of variation was 2.6 times higher than the genotypic coefficient of variation while it was moderate for male and female cocoon weight as the phenotypic coefficient of variation was 1.7 and 1.8 times higher than the genotypic coefficient of variation. For the rest of the characters this difference of components of variation was low.

But in case of green muga silkworm, genotypic and phenotypic coefficient of variations differed very widely for average dfl yield; widely for weight of male pupae and rate of emergence of male to female moths and moderately for fecundity, hatching percent, weight of male larvae, cocoon and shell, of female cocoon and shell and average cocoon production. Phenotypic coefficient of variation was little higher than the genotypic coefficient of variation for the other characters.

Measures of heritability revealed that heritable portion of variation for each trait was different in different phenotypes of muga silkworm. In respect of blue muga, weight of female and male larva, of female cocoon and pupa, of female and male cocoon shell, duration of larva and pupa had high heritability of over 50%. Fecundity had heritable variation in moderation of 48% while the other traits had low heritability. But in case of green muga, only 4 traits namely duration of larva and pupa and weight of female larva and shell had high heritability and the rest of all other traits had lower than 50% heritability.

Genetic advance in percent of mean of different traits also differed between the populations. The greatest magnitude of genetic advance was observed for the duration of pupa stage (56.6% for blue and 81.6% for green) followed by the duration of larva stage (44.4% for blue and 52.9 6% for green). In blue muga, high genetic advance was noticed for the weights of female cocoon, pupa and shell, male cocoon shell, female and male larva and fecundity (22.3% to 33.2%). For the yield of dfl and weights of male cocoon and pupa genetic advance was moderate (12.7% to 14.1%) while it was low for hatching percent, cocoon yield and sex ratio (0.6% to 5.7%). But in green muga, genetic advance was as high as 45.4% with respect to cocoon yield and it was moderate for most of other traits (11.1% to 27.3%) except in cases of hatching percent, weight of male cocoon and pupa as well as of female pupa (6.2% to 9.3%).

DISCUSSION

The results of comparative rearing performance of blue and green phenotypes of muga silkworm showed wide range of variability within and between themselves in respect of the traits of economic importance. But the mean values were close to each other except for the cocoon yield, cocoon utilisation and disease free laying (dfl) production ratios implying that the populations do not vary genetically much and the species has a narrow genetic base. This is further substantiated with the finding that the average quantitative expressions of important rearing parameters of both the phenotypes followed the same trend under seasonal influence. The present finding is also in agreement with the view held by Sengupta (1992).

However, it is encouraging to have isolated blue muga, which at least during some seasons has the potential for higher cocoon yield than that of prevalent green muga. But green muga was more efficient in terms of cocoon utilisation for production of dfl as well as dfl yield.

It is of great interest to observe that both the phenotypes, which were maintained as inbreds through mating between respective sibs-, half sibs, quarter-sibs and so on within a very limited population size did not show any definite trend of degradation with respect to the economic traits studied. The boost and downfall of the expressions of shell weight and dfl yield are presumably the

direct effects of outdoor rearing followed by indoor grainage operations influenced by environment such as climate, seasonal influence on food plants and human factors like rearing, grainage and disease management encompassing both host plants as well as of the muga silkworms. This is in agreement with the finding of Jolly *et al* (1979) on the cocoon characters of two other polymorphic populations namely Halflong greens and yellow muga over 10 generations and reported fluctuations in vigour from generation to generation with practically no deterioration. They attributed the fluctuations to a "physiological state" caused by the seasonal influence coupled with nutrition. The same explanation rationalizes the present finding.

The components of variances threw light on the differences between the population structures of both the phenotypes. In case of blue muga, the narrow difference between genotypic and phenotypic coefficient of variations for weight of female larva, cocoon and pupa, duration of larva and pupa imply that these traits are least influenced by environment and can be fixed through selection due to presence of additive genetic variance. Prevalence of similar trend except for the weights of female larva, cocoon and pupa in case of green muga suggests that the green muga phenotype is genetically more uniform than the blue muga.

High heritability with high genetic advance in percent of mean for larval and pupal duration and weight of female cocoon shell in respect of both the muga phenotypes indicate the preponderance of non- allelic interaction along with additive genetic effects influencing the manifestation of these characters and improvement through selection based on these characters may be effective.

Likewise the traits like fecundity, weights of female and male larva, female cocoon and pupa and male cocoon shell for blue muga may be fixed through selection.

In case of green muga, no other traits showing high heritability or genetic advance imply that these traits would not respond to direct selection (Tsushiya and Kurasawa, 1956).

However, fecundity for both the muga; weight of male cocoon shell and cocoon recovery for green muga may respond to recurrent selection because of association of moderate heritability coupled with genetic advance in moderation thus suggestive of intra and inter-allelic interaction towards expression of these traits.

It is concluded that even if the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww has fairly narrow genetic base, surfacing of blue muga phenotype among the prevalent green phenotype has added variability to muga silkworm germplasm. Judicious utilisation of aforementioned insight of variability among muga silkworm germplasm and further studies are expected to open a new vista for improving the muga silk scenario.

ACKNOWLEDGEMENT

Approval granted by the erstwhile Director (NE), Muga Seed Development Project, Central Silk Board for this study, P-4 basic seed rearing supervised by Mr. S. S. Singh, Senior Research Officer, presently posted at the Regional Tassar Research Station, Batot, Kashmir of Central Silk Board, Ministry of Textile, Govt. of India and suggestions tendered by Dr. D.N. Borthakur, ex-Vice chancellor, Assam Agriculture University, India are gratefully acknowledged.

REFERENCES

- CHAUDHURI MUKHOPADHYAY M., BHUYAN-BARUA N. & SINGH S.S. (1998). Blue! The breed is true!! Indian Silk. 36(9): 14-16.
 CHOWDHURY S.N. (1981). Muga Culture. 2nd edit. Directorate of Sericulture and Weaving, Govt. of Assam, India. 174p.
 FALCONER D.S. (1981). Introduction to Quantitative Genetics. 2nd edit. Longman, London. 340p
 Jolly, M.S. Sen, S. K. Sonwalkar, T.N. and Prasad, G.K. (1979). Non mulberry sericulture. FAO Agricultural Services Bulletin. 29: 124-135.

- SENGUPTA A.K. (1992). Improvement of seed and quality of muga silk. Lead Paper. Brain Storming Session on Application of Biotechnology to Muga Culture held in Central Silk Board, Guwahati, India. 10p.
- THANGAVELLU K. (2000). Present status and future research strategy in non- mulberry silkworm. Lead Papers. Nat. Conf. on Sericulture Research and Development held in CSRTI, Central Silk Board, Mysore, India : 49-59.
- THANGAVELLU K. & BHAGOWATI A.K. (1985). Studies on natural population of Muga silkworm, *Antheraea assama*, Westwood (Lepidoptera: Saturniidae). Sericologia. 25(1) :71-76
- THANGAVELLU K., BHAGOWATI A.K. & CHAKRABORTY A.K. (1984). Colour polymorphism in Muga silkworm, *Antheraea assama*, Westwood (Lepidoptera: Saturnidae). Current Science. 53(11) :594-595.
- TSUSHIYA S. & KURASAWA (1956). Study on the heritability of the measurable characters in *Bombyx mori*. I: Heritabilities in the weight of cocoon shell. J. Seric. Sci. Jpn. 26: 84-88.

CARACTERISTIQUES GENETIQUES PRINCIPALES D'UN VARIANT POLYMORPHIQUE DU VER A SOIE MUGA (*ANTHERAEA ASSAMA* WW.)

MONICA MUKHOPADHYAY CHAUDHURI

Assistant Director, Muga Seed Development Project, Central Silk Board, Ministry of Textile,
Govt. of India, Guwahati 781005, Inde.

*Le ver à soie semi-sauvage **Antheraea assama** Ww. (Lepidoptera : Saturniidae) présente une certaine variabilité dans sa population naturelle. Vraisemblablement, la variété disponible pour l'exploitation commerciale à l'heure actuelle est en général un rassemblement de différents groupes de liaison.*

*Bien que le polymorphisme de la couleur chez le ver à soie muga soit un phénomène connu depuis longtemps, on a rapporté qu'un variant bleu du muga normalement vert s'était éteint il y a plus de cent ans. Mais un phénotype ayant une larve au corps bleu a refait surface parmi les vers à soie semi-sauvages au corps vert pendant l'élevage d'un stock de graines dans le cadre du Projet de Développement des Graines de Muga en Inde. L'élevage successif pendant 21 générations avec des phénotypes verts courants comme témoins sur **Persea bombycina** K. (Lauraceae) montre que chacune des populations présente une grande part de variabilité interne et entre elles pour les caractères importants sur le plan économique mais les valeurs moyennes ne diffèrent pas beaucoup sauf pour le rendement en cocons, et pour les taux d'utilisation des cocons et de production de pontes saines (dfl). Les expressions quantitatives moyennes des paramètres d'élevage importants suivent la même tendance sous l'influence saisonnière. Les caractères économiques étudiés chez les deux phénotypes qui sont maintenus de manière consanguine par l'accouplement entre frères-sœurs, demi-frères-sœurs, quart de frères-sœurs respectifs et à l'intérieur d'une population de taille très petite ne présentent pas de tendance à la dégradation. Cependant, l'augmentation et la baisse des valeurs pour la fécondité des cocons, le rendement en œufs et le poids de la coque pourraient provenir des influences directes de facteurs environnementaux et humains. Les composants de la variance indiquent que même si **Antheraea assama** a une base génétique assez étroite, le fait que le phénotype bleu ait refait surface a ajouté de la variabilité aux germoplasmes du ver à soie muga, ce qui pourrait permettre la mise au point d'un programme d'amélioration.*

INTRODUCTION

Des quatre soies naturelles produites commercialement et commercialisées en Inde pour répondre aux besoins du marché domestique ainsi qu'aux exportations à l'étranger, la soie " muga " la plus chère se démarque en raison de sa couleur dorée naturelle, de sa brillance, de sa durabilité et de sa résistance. Cette soie de premier choix est produite par le ver à soie semi sauvage *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera : Saturniidae). L'espèce exploitée commercialement est polyvoltine et donne six générations consécutives sur une année.

A. assama présente une part importante de variation dans sa population naturelle et ce qui est disponible à l'heure actuelle pour l'exploitation commerciale est un ensemble à la diversité génétique limitée qui présente donc une vigueur hybride faible quand on croise les lignées de différentes souches

de graines entre elles (Thangavelu, 2000). Depuis longtemps on pense qu'il faut utiliser la variabilité génétique des ressources disponibles naturellement.

La croissance de l'industrie de la soie mûrier doit son succès aux souches génétiques riches de vers à soie aux caractères raciaux distincts qui ont beaucoup contribué à la mise au point d'hybrides supérieurs du ver à soie exploités commercialement. Mais en l'absence de races définies du ver à soie muga, on n'a pas pu entreprendre de programme d'exploitation de la vigueur hybride ou d'amélioration des caractères économiques par lignage conventionnel.

Bien que Chowdhury (1981) ait rapporté que les larves muga bleues existaient dans le passé mais se sont éteintes il y a plus de cent ans, on connaît depuis longtemps le phénomène de polymorphisme de la couleur chez le ver à soie muga (Thangavelu et coll., 1984 ; Thangavellu et Bhagowati, 1985). Mais l'utilisation potentielle de l'existence de tels variants génétiques n'a pas été étudiée systématiquement, et il n'y a eu non plus de maintien réussi comme entités séparées pendant plusieurs générations.

Un phénotype avec des larves au corps bleu a refait surface chez le ver à soie semi-sauvage muga couramment vert dans un ratio de 1 : 1764 et de 1 : 1850 pendant l'élevage d'automne de l'arrière grand parent pour le grainage à deux endroits différents. On a élevé le stock de graines à l'Unité de grainage de base P-4 à Tura (25° 30' N : 90° 16' E ; 478 m d'altitude) dans le cadre du Projet de Développement du Grainage du Muga. Le lieu d'élevage des stocks de graine est situé près de l'habitat naturel du ver à soie muga. Depuis on a observé des larves bleues refaire surface de temps en temps pendant la saison d'hiver parmi les larves vertes mais elle sont complètement masquées à l'intérieur de la première ou de la deuxième génération suivantes si on ne les isole pas et la population larvaire apparaît complètement verte.

On a isolé le variant bleu la première fois en 1995 pendant l'automne (septembre – octobre) et on l'a élevé comme génération d'hiver (novembre – janvier) dans le but qu'un variant génétique puisse ajouter une nouvelle dimension à l'amélioration des germoplasmes du muga. Le premier rapport sur l'observation de 12 générations *in situ* depuis l'isolement a montré des valeurs différentes pour les traits quantitatifs par comparaison aux vers dominants (Chaudhuri et coll., 1998). Nous avons donc réalisé cette étude dans ce contexte pour évaluer le degré de variabilité des caractéristiques du cycle de vie de ces 2 phénotypes.

MATERIELS ET METHODES

Le phénotype variant des vers à soie muga aux larves bleu a été isolé pendant la génération d'automne et élevé à l'extérieur avec les phénotypes verts courants comme témoins sur *Persea bombycina* K. (Lauraceae) pendant 21 récoltes successives de l'hiver 1995 jusqu'à la récolte d'été de 1999 selon une conception aléatoire d'après le programme local annuel d'élevage présenté dans le Tableau I. On laisse chaque lot de vers à soie muga filer des cocons à l'intérieur sur des encabanages traditionnels de branches feuillues sèches des plantes hôtes. On recueille les cocons et on les traite séparément pour assurer la production d'œufs et l'élevage de la prochaine génération. On enregistre séparément pour chaque population les données sur les valeurs de la fécondité, du % d'éclosion, le poids des larves mâle et femelle mûres, la durée larvaire, le taux effectif d'élevage, le ratio de cocons de grainage par rapport à l'ensemble des cocons, les poids des cocons mâles et femelles, des coques et des nymphes, le poids moyen de la coque, la durée nymphale, l'obtention de cocons par ponte saine élevée, l'utilisation de cocons pour la production d'une ponte saine, le taux de papillons mâles ayant émergé par rapport aux papillons femelles et de pontes saines (df) produites par ponte saine élevée. On procède aux estimations moyennes sur la performance d'élevage, aux analyses de variance et aux tests "t" en utilisant un programme informatique SPSS 10.0 tandis qu'on déduit les composants de variance d'après Falconer (1981) à partir des analyses de variance telles que σ_g^2 = variance

génomique, σ_e^2 = écart de la variance et σ_p^2 = variance phénotypique. En les utilisant, on calcule d'autres composants comme suit :

$$\text{Coefficient génomique de variation} = \frac{\sqrt{\sigma_g^2 \times 100}}{\mu}$$

$$\text{Coefficient phénotypique de variation} = \frac{\sqrt{\sigma_p^2 \times 100}}{\mu}$$

$$\text{Héritabilité (H)} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}$$

Avance génétique = $K \times H \times \sigma_p$ où K = différentiel de sélection standardisée à une intensité de sélection de 5 % = 2,06.

RESULTATS

Les estimations moyennes comparatives des caractéristiques du cycle de vie des phénotypes du muga bleu et du muga vert sont présentées dans le Tableau II. Les valeurs moyennes des paramètres économiques ne diffèrent pas énormément sauf pour le rendement en cocons, l'utilisation des cocons et les taux de production de pontes saines (df). Chez le muga bleu, la production moyenne de cocons par ponte saine élevée est plus importante que chez le muga vert courant (72,2 contre 68,3) mais le muga bleu est moins efficace en termes de l'utilisation des cocons pour la production d'une ponte saine ainsi que pour le rendement en pontes saines suite à l'élevage d'une ponte saine. Dans le cas du muga bleu, il faut en moyenne 6,9 cocons pour produire une ponte saine et on obtient 21,7 pontes saines par ponte élevée contre 4,4 cocons et 24,6 pontes saines dans le cas du muga vert.

Néanmoins, le Tableau III montre que chacune des populations présente une part importante de variabilité entre elles pour ces caractéristiques d'importance économique comme le montrent les valeurs "t" très significatives. Quand on compare les moyennes respectives des caractères chez les deux populations, en partant de variances égales dans un test "t" indépendant à 2 échantillons, l'absence de "0" dans l'intervalle de confiance des différences moyennes indique que les différences entre les populations bleu et verte sont significatives.

Puisqu'on réalise l'élevage à l'extérieur en continuité pendant un an, les variations saisonnières créent six environnements d'élevage différents en une année comme le montre le Tableau I. Les performances d'élevage comparatives des phénotypes bleu et vert pendant différentes saisons de l'année sont présentées de manière graphique dans les Fig. 1 à 3. Les expressions quantitatives moyennes des paramètres d'élevage importants varient beaucoup en fonction de l'influence saisonnière comme cela apparaît ci-dessous et presque tous les caractères des deux phénotypes suivent la même tendance comme le montrent les courbes.

Fécondité :

Les pontes saines élevées ont une fécondité en général alternativement élevée et faible au cours des différentes saisons (Fig. 1, axe Y primaire). Pendant l'élevage du printemps, la fécondité est en-dessous de la moyenne ($152 \pm 8,5$ et $8,7$ / ponte saine) chez les deux populations (Tableau I), elle est à son plus bas pendant l'été à 98 pour les bleus et 106 pour les verts, puis est élevée pendant la mousson. Dans le cas du muga vert courant, on observe la fécondité la plus élevée de 184 / ponte saine pendant la mousson. Pendant le reste de l'année la fécondité varie alternativement entre 156 et

185 et on observe la fécondité la plus élevée au niveau de 185 / ponte saine chez le muga bleu pendant l'automne.

Pourcentage d'éclosion :

Chez le muga bleu, on observe un bon pourcentage d'éclosion proche ou supérieur à la moyenne ($86,8 \pm 2,1$) pendant toutes les autres saisons autres que celle de l'été où il est de 81 % (Fig. 1, axe Y primaire). Les pourcentages d'éclosion pour le muga vert courant sont plus élevés au printemps, à la mousson et en hiver, soit 92 %, 90 % et 93 % plus que la valeur moyenne de $86,3 \pm 2,1$ tandis qu'il est très bas pendant la génération d'été (76 %).

Durée larvaire :

La variation saisonnière pour ce caractère est très marquée pour les générations autres que celles entre la mousson et à la fin de la mousson en général. Ce sont aussi des saisons pendant lesquelles la durée larvaire est la plus courte (23 jours) pour les larves des deux populations tandis que la durée la plus longue (40 et 44 jours) comme on peut s'y attendre est celle de l'hiver (Fig. 1, axe Y secondaire).

Taux effectif d'élevage (ERR) :

A l'exception du printemps et de l'été, les valeurs pour l'ERR (%) chez les deux phénotypes suivent en moyenne la même tendance (Fig. 1, axe Y secondaire). Il n'y a pas beaucoup de différence entre les valeurs moyennes ($50,7 \pm 6,4$ et $50,1 \pm 5,2$). On observe un bon ERR pendant l'été, la mousson, l'automne et l'hiver chez le muga bleu (62,5 %, 61,7 % ; 52,1 % et 57,8 %) tandis que chez le muga vert c'est le cas au printemps, à la mousson et pendant l'hiver (62,4 %, 53 % et 73,1 %). Il est le plus bas dans le cas de la génération de la fin de la mousson chez les deux populations.

Rendement en cocons :

Les estimations moyennes pour la production moyenne de cocons / ponte saine élevée chez le muga bleu ($72,2 \pm 9,3$) sont plus élevées que celles obtenues pour le muga vert ($68,3 \pm 10$) et on observe la même tendance pendant les différentes saisons au cours des années sauf au printemps. C'est à l'élevage du printemps que l'on obtient la meilleure récolte de cocons pour le muga vert (115 cocons / ponte saine) mais dans le cas des bleus on obtient le rendement le plus élevé de 104 cocons / ponte saine à la fin de l'élevage de la mousson (Fig. 2, axe Y primaire).

Ratio de cocons de grainage :

Sur la récolte totale de cocons, les cocons de grainage obtenus pour la prochaine génération sont plus importants que les ratios moyens ($0,85 \pm 0,05$ et $0,9 \pm 0,03$; Tableau 1) pendant les générations d'été, de la mousson, de l'automne et de l'hiver chez les phénotypes du muga bleu et vert (Fig. 3, axe Y primaire). Au printemps, on obtient les ratios les plus bas de cocons de grainage par rapport à l'ensemble des cocons de 0,64 et 0,84 pour les populations du muga bleu et vert.

Richesse soyeuse :

La richesse soyeuse moyenne (% RS) est plus élevée chez le muga vert que chez les bleus sauf pendant les générations du printemps et de l'été (Fig. 2, axe Y secondaire). Au printemps, il est plus élevé (9,31 %) chez le muga bleu. A la fin de la mousson, en automne et en hiver, on observe une RS inférieure à la moyenne ($9,1 \pm 0,2$) chez les deux populations.

Durée nymphale :

Pendant la génération du printemps, la durée du stade nymphal est comprise entre 38 et 40 jours respectivement chez le muga bleu et vert et pendant les autres saisons elle varie entre 18 et 24 jours (Fig. 2, axe Y secondaire).

Ratio d'utilisation de cocons :

Le nombre de cocons nécessaires pour produire une ponte saine est optimum (moins de 3 cocons / ponte saine) pendant toutes les saisons sauf au printemps et en hiver (Fig. 3, axe Y primaire) avec le muga vert. La variation saisonnière de ce paramètre est plus prononcée chez le muga bleu.

Ratio de papillons mâles / femelles :

Comme on pouvait s'y attendre, on remarque la même tendance chez les deux populations pour le ratio d'émergence des papillons mâles et femelles (Fig. 3, axe Y primaire).

Le rendement en pontes saines, le rendement en pontes saines / ponte saine élevée sont des variables très fluctuantes. Bien qu'en moyenne, on obtienne le meilleur rendement (40 pontes saines / ponte élevée) avec le muga vert de la génération du printemps, on obtient aussi un bon rendement à la fin de la mousson et en hiver. La fin de la mousson semble être très bonne pour le muga bleu aussi en terme de production de pontes saines (39 pontes saines / ponte élevée) suivie par l'hiver et la mousson (Fig. 2, axe Y primaire).

La figure 4 montre qu'il y a des pics et des chutes des valeurs des 2 paramètres économiques les plus importants comme le poids moyen de la coque (axe Y primaire) et le rendement en pontes saines / ponte saine élevée (axe Y secondaire) pendant les 21 générations chez les deux phénotypes.

Les estimations des composants de la variance sont présentées dans le Tableau IV. Le coefficient phénotypique de variation pour tous les caractères exprimés par les deux populations est toujours plus élevé que le coefficient génotypique de variation. Dans le cas du muga bleu, la différence entre le coefficient génotypique et phénotypique de variation pour les rendements en cocons et en pontes saines ainsi que pour les rapports papillons mâles / femelles est très importante, le coefficient phénotypique de variation est 3,6 et 8,7 fois plus élevé que le coefficient génotypique de variation. Cette différence est importante pour le pourcentage d'éclosion puisque le coefficient phénotypique de variation est 2,6 fois plus élevé que le coefficient génotypique de variation tandis qu'elle est modérée pour le poids du cocon mâle et femelle puisque le coefficient phénotypique est 1,7 et 1,8 fois plus élevé que le coefficient de variation génotypique. Pour le reste des caractères cette différence des composants de variation est faible.

Mais dans le cas du ver à soie muga vert, les coefficients de variation génotypique et phénotypique diffèrent très largement pour le rendement moyen en pontes saines, largement pour le poids des nymphes mâles et le taux d'émergence des papillons mâles par rapport aux femelles et modérément pour la fécondité, le pourcentage d'éclosion, le poids des larves, du cocon et de la coque soyeuse mâles et du cocon et de la coque femelles et la production moyenne de cocons. Le coefficient de variation phénotypique est un peu plus élevé que le coefficient de variation génotypique pour tous les autres caractères.

Les mesures de l'héritabilité révèlent que la part héréditaire de variation pour chaque caractère est différente chez les différents phénotypes du ver à soie muga. En ce qui concerne le muga bleu, le poids de la larve femelle et mâle, du cocon et de la nymphe femelle, de la coque soyeuse femelle et mâle, la durée larvaire et nymphale ont une héritabilité élevée de plus de 50 %. La fécondité a une héritabilité modérée de 48 % tandis que les autres caractères présentent une faible héritabilité. Mais dans le cas du muga vert, seuls 4 caractères à savoir la durée larvaire et nymphale et le poids des larves et des coques femelles présentent une héritabilité élevée, le reste des autres caractères présentent une héritabilité inférieure à 50%.

L'avance génétique en pourcentage de la moyenne pour les différents caractères diffère aussi entre les populations. On observe la plus grande amplitude de l'avance génétique pour la durée du stade nymphal (56,6 % pour les bleus et 81,6 % pour les verts) suivie par la durée du stade larvaire (44,4 % pour les bleus et 52,96 % pour les verts). Chez le muga bleu, on remarque une avance génétique élevée pour les poids du cocon, de la nymphe et de la coque femelles et pour le poids de la coque mâle, des larves femelles et mâles et pour la fécondité (22,3 % à 33,2 %). Pour le rendement en pontes saines et les poids des cocons et des nymphes mâles l'avance génétique est modérée (12,7 %

à 14,1 %) tandis qu'elle est faible pour le pourcentage d'éclosion, le rendement en cocons et le sexe ratio (0,6 à 5,7 %). Mais chez le muga vert, l'avance génétique atteint un niveau élevé de 45,4 % pour le rendement en cocons et elle est modérée pour presque tous les autres caractères (11,1 à 27,3 %) sauf dans les cas du pourcentage d'éclosion, du poids du cocon et de la nymphe mâle ainsi que pour la nymphe femelle (6,2 % à 9,3 %).

DISCUSSION

Les résultats de la performance d'élevage comparative des phénotypes bleu et vert du ver à soie muga présentent une part importante de variabilité à l'intérieur et entre les phénotypes pour les caractères d'importance économique. Mais les valeurs moyennes sont proches entre elles à l'exception du rendement en cocons, de l'utilisation en cocons et des ratios de production de pontes saines (dfl), ce qui montre que les populations ne varient pas beaucoup génétiquement et que l'espèce a une base génétique étroite. On en a la confirmation lorsqu'on observe les expressions quantitatives moyennes des paramètres d'élevage importants des deux phénotypes qui suivent la même tendance sous l'influence saisonnière. Cette observation confirme aussi celle de Sengupta (1992).

Cependant, il est encourageant d'avoir isolé le muga bleu qui au moins pendant certaines saisons a un potentiel de rendement en cocons plus élevé que celui du muga vert courant. Mais le muga vert est plus efficace en termes d'utilisation des cocons pour la production d'une ponte saine ainsi que pour le rendement en pontes saines.

Il est très intéressant d'observer que les deux phénotypes qui sont maintenus comme des consanguins par accouplement entre frères-sœurs, demi frères-sœurs, quart de frères-sœurs respectifs et ainsi de suite à l'intérieur d'une population de taille très limitée ne présentent pas une tendance à la dégradation des caractères économiques étudiés. L'augmentation et la baisse des expressions du poids de la coque et du rendement en pontes saines sont vraisemblablement les effets directs de l'élevage à l'extérieur et des opérations de grainage à l'intérieur : les facteurs environnementaux tels que le climat et la saison ont une influence sur les plantes hôtes ainsi que les facteurs humains comme l'élevage, le grainage et la gestion des maladies sur les plantes hôtes et les vers à soie muga. Cela confirme les observations de Jolly et coll., (1979) sur les caractères du cocon de deux autres populations polymorphiques à savoir les muga verts Halflong et jaunes sur 10 générations lesquels ont observé des fluctuations de la vigueur d'une génération à l'autre sans presque aucune détérioration. Ils ont attribué les fluctuations à " un état physiologique " provoqué par l'influence saisonnière et la nutrition. Cette explication est valable pour cette étude.

Les composants de variance éclairent les différences entre les structures de population des deux phénotypes. Dans le cas du muga bleu, la différence entre les coefficients de variation génotypique et phénotypique pour le poids des larves femelles, des cocons et des nymphes, la durée larvaire et nymphale signifient que ces traits sont au moins influencés par l'environnement et peuvent être fixés par la sélection grâce à la présence d'une variance génétique additive. L'existence d'une tendance similaire sauf pour les poids des larves, des cocons et des nymphes femelles dans le cas du muga vert suggère que le phénotype du muga vert est génétiquement plus uniforme que le muga bleu.

L'héritabilité élevée avec une avance génétique élevée en pourcentage de la moyenne pour la durée larvaire et nymphale et le poids de la coque soyeuse femelle chez les deux phénotypes du muga indique la prépondérance d'une interaction non-allélique avec des effets génétiques additifs qui influencent la manifestation de ces caractères et l'amélioration par la sélection à partir de ces caractères pourrait être efficace.

De même, les caractères comme la fécondité, les poids des larves femelles et mâles, du cocon et de la coque femelle et la coque soyeuse mâle pour le muga bleu pourraient être fixés par la sélection.

Dans le cas du muga vert, aucun autre caractère ne présente une héritabilité ou une avance génétique élevées ce qui laisse entendre que ces caractères ne répondraient pas à la sélection directe (Tsushiya et Kurasawa, 1956).

Cependant, la fécondité à la fois pour les deux muga, le poids de la coque soyeuse mâle et la récupération de cocons pour le muga vert pourraient répondre à la sélection récurrente en raison de l'association d'une héritabilité modérée et d'une avance génétique modérée ce qui suggère une interaction intra et inter-allélique pour l'expression de ces caractères.

On en conclut que même si le ver à soie muga *Antheraea assama* Ww. a une base génétique assez étroite, le fait que le phénotype du muga bleu ait refait surface parmi le phénotype vert courant ajoute une variabilité aux germoplasmes du ver à soie muga. On pense que l'utilisation judicieuse de la variabilité parmi les germoplasmes du ver à soie muga ainsi que des études supplémentaires offrent de nouvelles perspectives pour améliorer la situation de la soie muga.

EFFICACY OF DIFFERENT BED DISINFECTANTS AGAINST GRASSERIE AND FLACHERIE DISEASES IN SILKWORM *BOMBYX MORI* L. UNDER TEMPERATE CLIMATIC CONDITION OF KASHMIR

S. B. ZEYA, HAROON RASHID, MIR NISAR AHMAD & M. A. KHAN

Central Sericultural Research and Training Institute, Pampore, P.Bag-88 GPO-Srinagar-190 001, J&K, India

*The silkworm bed disinfectants, Vijetha, Resham Jyothi, ReshamKeet Oushadh (RKO) and Slaked lime were tested at laboratory conditions for their efficacy against grasserie and flacherie in silkworm *Bombyx mori* L. During spring, the silkworm hybrid utilized was SH6 x NB4D2 and during summer and autumn CSR18 x CSR19 recommended for rearing under respective season. The inference revealed that Vijetha and Resham Jyothi are found effective against grasserie as well as flacherie diseases while RKO and slaked lime proved to be good only for grasserie.*

Keywords: *Bombyx mori*, bed disinfectants, disease incidence, prevention

INTRODUCTION

Silkworm *Bombyx mori* L. is prone to attack by many infectious diseases in all the sericultural belts by various pathogens. Amongst them the viral (grasserie) and bacterial (flacherie) diseases are common in temperate climatic condition of Kashmir. Viral diseases like, NPV, denso-nucleosis and infectious flacherie alone cause 30-40% crop loss in the tropical belt of sericulture (Sidhu and Singh, 1968). Patil and Sharadamma (1999) reported that more than 30% crop loss is due to the grasserie and flacherie diseases. One diseased silkworm in a healthy population of hundred larvae in early instar can spread the infection up to 44% in respect of Nuclear polyhedrosis and 100% of infectious flacherie (Datta *et al.*, 1998). The main reason of disease outbreak is the heavy pathogen load in the rearing environment released by diseased worms which are not only responsible to contaminate the rearing environment but also contaminate the mulberry leaves by their faecal matter containing a large number of pathogens causing the disease to spread very fast in the rearing beds. Hence, in order to check the spread of disease in the rearing beds it was felt that a silkworm body and seat disinfectants may help in reducing the spreading of diseases in the silkworm rearing. In this regard, effect of different bed disinfectants on the prevention of Nuclear polyhedrosis of silkworm *Bombyx mori* L. was worked out by Sharma *et al.*, (1994) from tropical belt of sericulture. Shasidharan *et al.*, (2000) reported the performance of a bed disinfectant, Resham Jyothi against grasserie and flacherie diseases of mulberry silkworm, under field condition of Karnataka. However, such study from temperate climatic condition has not been conducted so far either at laboratory or under field conditions. Hence, with this objective, different bed disinfectants i. e., Vijetha, Resham Jyothi, and RKO developed by various research institutes of Central Silk Board were tried in the silkworm rearing at laboratory level.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted during three seasons, summer and autumn, 2000 and spring, 2001 in the laboratory in order to make recommendations at farmers level with regards to use of bed disinfectant. In this study two different silkworm hybrids were taken i.e, CSR18 x CSR19, an authorized hybrid for adverse conditions i.e, high temperature and high humidity and other hybrid namely, SH6 x NB4D2 which is a ruling in the northern areas of the country including J&K.

During summer and autumn 2000, CSR18 x CSR19 was tested while during spring 2001, SH6 x NB4D2 was used as test animal for the study. Three bed disinfectants namely, Vijetha, Resham Jyothi and ReshamKeet Oushadh were taken as treatments. Slacked lime was also included as one of the treatments as it improves the microclimate of the silkworm rearing bed in addition to inactivation of pathogens (Parasad, 1999) and a control set was kept in which no chemical formulation was provided. Three dfls (disease free layings) were brushed for each treatment and the bed disinfectants including Slaked lime were applied as per the procedure recommended i.e, half an hour before resuming the worms after each moult and on fourth day of fifth instar (Baig & Kumar, 1987; Datta *et al.*, 1998; Samson *et al.*, 1998; and Prasad, 1999). Each treatment and control was replicated five times with 200 worms per replication during summer and autumn, 2000 and 250 worms per replication in spring 2001. The entire rearing was conducted in the laboratory as per the procedure (Datta *et al.*, 1996).

RESULTS AND DISCUSSIONS

The observations revealed that during summer 2000, the survival rate of larvae was highest (94.70%) in the larvae treated with Vijetha which was statistically at par with the treatment of Slaked lime, (94.60%). In control the survival rate of larvae was significantly lower (88.00%). Similarly the survival rate of pupae was also recorded highest in the treatment of Vijetha (94.07%) and significantly lower in control (87.47%). The cocoon yield / 10,000 larvae brushed by weight was registered highest in the treatment of Slaked lime (14.76 kg) followed by RKO (14.09 kg) and minimum in control (11.94 kgs.). The highest single cocoon weight was obtained in the treatment of Slaked lime (1.59 g) followed by Resham Jyothi (1.58 g) (Table I). The mortality per cent due to grasserie (Table II) was recorded in the range of 1.1%-2.7% in different treatments of bed disinfectants and it was significantly high in the control (5.6%). While in case of bacterial flacherie the larval mortality was statistically at par in all the treatments of bed disinfectants in the range of 2.0%-3.5% whereas it was recorded highest in control (5.0%) which was significantly different from the treatments of Vijetha (2.0%) and Resham Jyothi (2.2%).

During autumn 2000, (Table II) the survival rate of larvae was recorded higher in the treatments of Vijetha and Resham Jyothi (93.00%) each followed by RKO (91.60%). It was significantly decreased in the treatment of Slaked lime (87.90%) and control (86.70%). The survival rate of pupae was highest in the treatment of Resham Jyothi (92.62%) and Vijetha (92.41%) whereas it was statistically low in Slaked lime (87.30%) and control (85.53%). The cocoon yield / 10,000 larvae brushed by weight was highest in the treatment of Resham Jyothi (13.27 kg) which was at par with the values recorded in RKO (13.08 kg.) and Vijetha (13.05 kg). The values of cocoon yield were significantly higher than the treatment of Slaked lime (12.42 kg) and control (11.49 kg). Single cocoon weight was however, highest (1.47 g) in control closely followed by treatments of RKO (1.46 g), Slaked lime and Resham Jyothi (1.45 g) each and it was lowest in Vijetha (1.43 g). The mortality per cent (Table II) due to grasserie was maximum in control (7.0%) which was significantly higher than the treatments of bed disinfectants (1.7%-3.4%) whereas in case of bacterial flacherie the highest mortality was recorded in control (6.2%) which was at par with the treatment of Slaked lime (5.50%) and the lowest mortality occurred with the treatment of Vijetha (2.20%).

Table I. Rearing performance.

Tableau I. Performance d'élevage.

Season / Saison (Hybrid) / (Hybride)	Parameters Paramètres	Vijetha	Resham Jyothi	RKO	Slaked lime Chaux détrempee	Control Témoin	CD at 5%
Summer 2000 <i>Eté 2000</i> (CSR18 × CSR19)	Survival rate of larvae (%) <i>Taux de survie des larves (%)</i>	94.70 a	93.80 cd	94.00 c	94.60 ab	88.00 e	0.300
	Survival rate of pupae (%) <i>Taux de survie des nymphes (%)</i>	94.07 a	92.70 abcd	93.52 abc	93.84 ab	87.47 e	2.883
	Cocoon yield per 10,000 larvae brushed by weight (kg) <i>Rendement en cocons pour 10 000 larves levées en poids (kg)</i>	13.57 bcd	13.68 bc	14.09 ab	14.76 a	11.94 e	1.00
	Single cocoon weight (g) <i>Poids d'un cocon (g)</i>	1.51 cd	1.58 ab	1.52 c	1.59 a	1.51 cd	0.05
	Survival rate of larvae (%) <i>Taux de survie des larves (%)</i>	93.00 a	93.00 a	91.60 b	87.90 c	86.70 d	0.302
	Survival rate of pupae (%) <i>Taux de survie des nymphes (%)</i>	92.41 ab	92.62 a	90.93 abc	87.30 d	85.53 de	3.57
Autumn 2000 <i>Automne 2000</i> (CSR18 × CSR19)	Cocoon yield per 10,000 larvae brushed by weight (kg) <i>Rendement en cocons pour 10 000 larves en poids (kg)</i>	13.05 abc	13.27 a	13.08 ab	12.42 d	11.49 e	0.52
	Single cocoon weight (g) <i>Poids d'un cocon (g)</i>	1.43 cd	1.45 abc	1.46 ab	1.45 abc	1.47 a	0.02
	Survival rate of larvae (%) <i>Taux de survie des larves (%)</i>	98.96 a	98.72 abcd	98.88 ab	98.80 abc	96.40 e	0.427
	Survival rate of pupae (%) <i>Taux de survie des nymphes (%)</i>	98.21 a	96.92 cd	97.89 ab	97.48 abc	94.10 e	0.826
	Cocoon yield per 10,000 larvae brushed by weight (kg) <i>Rendement en cocons pour 10 000 larves levées en poids (kg)</i>	17.264 bc	17.168 bcd	17.656 a	17.272 b	16.280 e	0.298
	Single cocoon weight (g) <i>Poids d'un cocon (g)</i>	1.827 bc	1.823 bcde	1.874 a	1.831 b	1.825 bcd	0.036
Spring 2001 <i>Printemps 2001</i> (SH6 × NB4D2)							

Table II. Mortality % of larvae due to diseases.

Tableau II. Pourcentage de mortalité des larves dû aux maladies.

Season (Hybrid)	Mortality (%)	Vijetha	Resham Jyothi	RKO	Slaked lime	Control	CD at 5%
Saison (Hybride)	% de mortalité				Chaux	Témoin	
Summer 2000 <i>Été 2000</i> (CSR18 × CSR19)	Grasserie Bacterial flacherie <i>Flacherie</i> <i>bactérienne</i>	1.9 bc 2.0 bcde	2.7 b 2.2 bcd	1.5 bcd 3.1 bc	1.1 de 3.5 ab	5.6 a 5.0 a	1.24 2.02
Autumn 2000 <i>Automne 2000</i> (CSR18 × CSR19)	Grasserie Bacterial flacherie <i>Flacherie</i> <i>bactérienne</i>	1.7 bcde 2.20 cde	2.4 bcd 3.10 cd	2.6 bc 3.70 bc	3.4 b 5.50 ab	7.0 a 6.20 a	3.16 2.12
Spring 2001 <i>Printemps 2001</i> (SH6 × NB4D2)	Grasserie Bacterial flacherie <i>Flacherie</i> <i>bactérienne</i>	0.32 bc 0.72 bcd	0.40 b 0.96 b	0.32 bc 0.80 bc	0.24 bcd 0.96 b	1.20 a 2.40 a	0.21 0.443

During spring 2001, the maximum survival rate of larvae was obtained in the treatment of Vijetha (98.96%) which was at par with rest of the treatments which ranged from 98.72% to 98.88% and lowest value recorded in control (96.40%). The survival rate of pupae was observed highest with the treatment of Vijetha (98.21%) and significantly low value registered in control (94.10%). The treatment, RKO recorded highest cocoon yield / 10,000 larvae brushed by weight (17.656 kg) and significantly lowest in control (16.280kg). The single cocoon weight was noted to be highest in RKO (1.874 g) and lowest recorded in the treatment of Resham Jyothi (1.823 g) and control (1.825 g). The mortality per cent (Table II) due to grasserie was less than 0.5% in different treatments of bed disinfectants. It was little higher in control (1.20%). Whereas in case of bacterial flacherie the lower mortality per cent observed was in the treatment of Vijetha (0.72%) statistically at par with rest of the treatments which ranged from 0.80%-0.96% and it was significantly higher in control (2.40%).

In the present study, the bed disinfectants i. e., Vijetha and Resham Jyothi were equally effective in controlling the spread of grasserie and bacterial flacherie in silkworm *Bombyx mori* L. Datta *et al.*, (1998) and Natraju *et al.*, (1997) stated that Vijetha is an effective bed disinfectant and effective against all the infectious diseases of silkworm including grasserie and flacherie. Resham jyothi is a wide spectrum bed disinfectant effective against all silkworm pathogens (Samson *et al.*, 1998 and Sasidharan *et al.*, 2000). Slaked lime used as bed disinfectant in the present experiment was significantly effective in reducing the incidence of grasserie only (Table II). Iwashita and Zhou (1988) reported that polyhedral bodies of BmNPV were dissolved quickly when dipped in saturated solution of calcium hydroxide (solution of Slaked lime in water) and varions became inactivated. Similar observation has been made by Balavenkatasubbaiah *et al.*, (1994) where they reported that polyhedral bodies of NPV dissolved in 0.3% Slaked lime solution. This is more or less similar to the application of RKO (containing 96% Slaked lime in addition to other chemicals) (Anonymous, 1990). RKO used

as bed disinfectants in the study was observed effective against NPV causing grasserie in silkworm *Bombyx mori*. The present results get support with the findings of earlier workers (Samson *et al.*, 1987 and Baig *et al.*, 1990). Hence, it is concluded that the survival rate of larvae, pupae and cocoon yield have been recorded significantly high in all the treated series by reducing the spread of diseases.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are extremely indebted to Dr. M. M. Ahsan Ex- Director, CSR&TI, Pampore for providing the necessary facilities to carry out the experiment. Thanks are due to Mr. Inder Singh Bali, field assistant of this institute for rendering his support during rearing of the silkworm in the laboratory. We are also thankful to Dr. G. P. Singh, Senior Research officer, Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi for his valuable suggestions.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1990). Handbook on pest and disease control of mulberry and silkworm. United Nations, Economic And Social Commission For Asia And The Pacific, Bangkok, Thailand, pp. I-IX + 1-88.
- BAIG M. & KUMAR P.(1987). Silkworm diseases and pests. Appropriate Sericulture Techniques (Edited by Dr. M. S. Jolly) pp. 107-144.
- BAIG M., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S. D., SINGH B.D., SASIDHARAN, T. O. & NOAMANI, M.K.R. (1990). Field trial of Resham Keet Oushad on the cocoon yield of silkworm *Bombyx mori* L. *Sericologia*. 30(4): 543-546.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., NATRAJU B. & DATTA, R. K. (1994) Comparative efficacy of different bed disinfectants against Nuclear polyhedrosis virus(BmNPV) and *Beauveria bassiana* of silkworm *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.* 33(2): 142-145.
- DATTA R. K. BASAVARAJ, H. K. & MANO Y. (1996)). Manual of bivoltine rearing, race maintenance and multiplication. JICA, Bivoltine Sericulture Technology development Project, CSR&TI, Mysore. pp. 65.
- DATTA R. K., BAIG M., NATRAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M. & SELVAKUMAR T.(1998). Vijetha an effective disinfectant. *Indian Silk*. 36(9):12-13
- IWASHITA Y. & ZHOU C. Q. (1988). Inactivation by the treatment of nuclear polyhedrosis virus of the silkworm *Bombyx mori* L. with calcium hydroxide solution. *J.Seric. Sci. jpn.* 57 (6): 511-518
- NATRAJU B., SIVAPRASAD V. & UTSUMI S.(1997). Manual on silkworm viral diseases and their control. JICA, Bivoltine Sericulture Technology Development Project, CSR&TI, Mysore. pp. 55.
- PATIL C. S. & SHARADAMMA, P. (1999). Sanjeevni: An effective bed disinfectant. *Indian Silk*. 37(12):13-14
- PRASAD N. R.(1999). Lime and its application in silkworm disease management. *Indian silk*. 38(7):12-13
- SAMSON M. V., BEIG M. & JOLLY M.S. (1987). “ Resham Keet Oushad “ A prospective bed disinfectant against grasserie and muscardine. *Indian Silk*. 25(11) 16-18
- SAMSON M. V., SINGH, R. N. & SASIDHARAN T. O.(1998). Resham Jyothi- A wide spectrum bed disinfectant. *Indian Silk*. 37(3):9-10
- SASIDHARAN T. O., SINGH R.N. & SAMSON M.V. (2000) . Efficacy of a new silkworm bed disinfectant “Resham Jyothi” under field condition. *Indian J. Seric.*39(1): 41-42
- SHARMA B.J., SAMSON M. V., BALAVENKATASUBBAIAH M. & DATTA, R. K. (1994). Effect of different disinfectants on prevention of Nuclear polyhedrosis of the silkworm *Bombyx mori* L. *Sericologia*.34(2):265-270
- SIDHU N. S. & SINGH K. (1968). Studies on Polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*7(1): 1-5.

EFFICACITE DE DIFFERENTS DESINFECTANTS DE LITIÈRE CONTRE LES MALADIES DE LA GRASSERIE ET DE LA FLACHERIE CHEZ LE VER À SOIE *BOMBYX MORI* L. DANS LES CONDITIONS CLIMATIQUES TEMPÉRÉES DU CACHEMIRE

S. B. ZEYA, HAROON RASHID, MIR NISAR AHMAD & M. A. KHAN

Central Sericultural Research and Training Institute, Pampore, P. Bag-88 GPO-Srinagar- 190 001, J & K, Inde

*Nous avons testé en laboratoire les désinfectants de litière suivants : le Vijetha, le Resham Jyothi, le Resham Keet Oushadh (RKO) et la chaux pour leur efficacité contre la grasserie et la flacherie chez le ver à soie *Bombyx mori* L. Au printemps, l'hybride de ver à soie utilisé est SH6 × NB4D2 et pendant l'été et l'automne CSR18 × CSR19, qui sont tous les deux recommandés pour l'élevage pendant les saisons respectives. On en a conclu que le Vijetha et le Resham Jyothi sont efficaces contre les maladies de la grasserie et de la flacherie tandis que le RKO et la chaux ne se révèlent efficaces que contre la grasserie.*

INTRODUCTION

Le ver à soie *Bombyx mori* L. est victime de nombreuses maladies infectieuses provoquées par des pathogènes variés dans toutes les régions sérícicoles. Parmi elles, les maladies virale (grasserie) et bactérienne (flacherie) sont courantes dans les conditions climatiques tempérées du Cachemire. Les maladies virales comme la NPV, la densonucléose et la flacherie infectieuse entraînent à elles seules une perte de récoltes de l'ordre de 30 à 40 % dans la zone de séríciculture tropicale (Sidhu et Singh, 1968). Patil et Sharadamma (1999) ont rapporté que plus de 30 % des pertes de récoltes sont provoquées par les maladies de la grasserie et de la flacherie. Un ver à soie malade dans une population saine de cent larves des premiers âges peut propager l'infection de la polyédrose nucléaire jusqu'à 44 % et celle de la flacherie infectieuse jusqu'à 100 % (Datta et coll., 1998). La principale cause de l'éruption des maladies est la présence importante de pathogènes dans l'environnement d'élevage à cause des vers malades ; leurs matières fécales qui contiennent un nombre important de pathogènes entraînent la contamination de l'environnement mais aussi des feuilles de mûrier, ce qui fait que la maladie se répand très vite dans les litières. Pour lutter contre la multiplication de la maladie dans les litières, on a donc pensé que la désinfection des claies et des vers pourrait permettre de réduire la multiplication des maladies au cours de l'élevage du ver à soie. A cet égard, Sharma et coll. (1994) ont étudié l'effet de différents désinfectants de litière sur la prévention de la polyédrose nucléaire chez le ver à soie *Bombyx mori* L. dans la zone de séríciculture tropicale. Shasidharan et coll., (2000) ont fait état de la performance d'un désinfectant de litière, le Resham Jyothi, contre les maladies de la grasserie et de la flacherie chez le ver à soie du mûrier sur le terrain dans le Karnataka. Cependant, aucune étude similaire n'a été réalisée jusqu'à présent en laboratoire ou sur le terrain dans les conditions climatiques tempérées. Nous avons donc essayé dans ce but différents désinfectants de litière : le Vijetha, le Resham Jyothi et le RKO mis au point par différents instituts de recherche du Central Silk Board pendant l'élevage du ver à soie en laboratoire.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé l'expérience sur trois saisons, en été et en automne 2000 et au printemps 2001 en laboratoire de manière à faire des recommandations pour les fermiers concernant l'utilisation des désinfectants de litière. Dans cette étude, nous avons utilisé deux hybrides différents de ver à soie : CSR8 × CSR19, un hybride autorisé dans des conditions hostiles de température élevée et d'humidité élevée et un autre hybride à savoir SH6 × NB4D2 qui est utilisé dans les régions du nord du pays y compris dans le Jammu & Kashmir.

On teste CSR18 × CSR19 pendant l'été et l'automne 2000, tandis qu'on utilise SH6 × NB4D2 au printemps 2001. Nous prenons trois désinfectants de litière à savoir le Vijetha, le Resham Jyothi et le ReshamKeet Oushadh comme traitements. On inclut aussi la chaux dans les traitements parce qu'elle améliore le microclimat de la litière du ver à soie tout en inactivant les pathogènes (Parasad, 1999) et on conserve un lot témoin auquel on n'apporte aucune formulation chimique. On lève trois pontes saines pour chaque traitement et on applique les désinfectants de litière dont la chaux d'après la procédure recommandée c'est à dire une demi heure après chaque mue et le quatrième jour du cinquième âge (Baig et Kumar, 1987 ; Datta et coll., 1998 ; Samson et coll., 1998 et Prasad, 1999). Il y a cinq répétitions pour chaque traitement et pour le témoin avec 200 vers par répétition pendant l'été et l'automne 2000 et 250 vers par répétition au printemps 2001. Tout l'élevage est réalisé en laboratoire en suivant la procédure (Datta et coll., 1996).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les observations révèlent que le taux de survie des larves est plus élevé au cours de l'été 2000 (94,70 %) chez les larves traitées avec le Vijetha, qui est égal sur le plan statistique à la chaux (94,60 %). Chez le témoin, le taux de survie des larves est significativement plus bas (88 %). De même, on enregistre le taux de survie des nymphes le plus élevé avec le Vijetha (94,07 %) et il est significativement plus bas chez le témoin (87,47 %). On enregistre le rendement le plus élevé en poids / 10 000 larves levées avec la chaux (14,76 kg), suivi par le RKO (14,09 kg) et celui du témoin est le plus bas (11,94 kg). On obtient le poids de cocon le plus élevé avec la chaux (1,59 g), suivi par le Resham Jyothi (1,58 g) (Tableau I). On observe un pourcentage de mortalité due à la grasserie (Tableau II) de l'ordre de 1,1 à 2,7 % avec les différents désinfectants de litière et il est significativement plus élevé chez le témoin (5,6 %). Tandis que dans le cas de la flacherie bactérienne, la mortalité larvaire est statistiquement égale entre les désinfectants c'est à dire de 2 à 3,5 % tandis qu'elle est la plus élevée chez le témoin (5 %) soit une différence significative par rapport au Vijetha (2 %) et au Resham Jyothi (2,2 %).

Au cours de l'automne 2000 (Tableau II), on enregistre le taux de survie des larves le plus élevé avec le Vijetha et le Resham Jyothi (93 %) suivis par le RKO (91,60 %). Il baisse de manière significative avec la chaux (87,90 %) et chez le témoin (86,70 %). Le taux de survie des nymphes est le plus élevé avec le Resham Jyothi (92,62 %) et le Vijetha (92,41 %) tandis qu'il est statistiquement faible avec la chaux (87,30 %) et chez le témoin (85,53 %). Le rendement en cocons en poids pour 10 000 larves levées est le plus élevé avec le Resham Jyothi (13,27 kg) qui est à égalité avec le RKO (13,08 kg) et le Vijetha (13,05 kg). Les valeurs pour le rendement en cocons sont significativement plus élevées qu'avec la chaux (12,42 kg) et que pour le témoin (11,49 kg). Cependant, le poids du cocon est le plus élevé (1,47 g) chez le témoin suivi de près par le RKO (1,46 g), la chaux et le Resham Jyothi (1,45 g tous les deux) et il est le plus bas avec le Vijetha (1,43 g). Le pourcentage de mortalité (Tableau II) dû à la grasserie est maximum chez le témoin (7 %), soit une différence significative plus élevée par rapport aux désinfectants de litière (1,7 % - 3,4 %) tandis que dans le cas de la flacherie bactérienne, on enregistre la mortalité la plus élevée chez le témoin (6,2 %), qui est égale à celle obtenue avec la chaux (5,50 %) et on obtient la mortalité la plus faible avec le Vijetha (2,20 %).

Au printemps 2001, on obtient le taux maximum de survie des larves avec le Vijetha (98,96 %) à égalité avec les autres traitements, (compris entre 98,72 et 98,88 %) et on enregistre la valeur la plus faible chez le témoin (96,40 %). On observe le taux de survie des nymphes le plus élevé avec le Vijetha (98,21 %) et on enregistre la valeur la plus faible chez le témoin (94,10 %). On remarque que le poids du cocon est le plus élevé avec le RKO (1,874 g) et le plus bas avec le Resham Jyothi (1,823 g) et chez le témoin (1,825 g). Le pourcentage de mortalité (Tableau II) dû à la grasserie est inférieur à 0,5 % avec les différents désinfectants de litière. Il est un peu plus élevé chez le témoin (1,20 %). Tandis que dans le cas de la flacherie bactérienne, on observe le pourcentage de mortalité le plus faible avec le Vijetha (0,72 %) soit à égalité statistiquement avec les autres traitements qui sont compris entre 0,80 et 0,96 % et il est significativement plus élevé chez le témoin (2,40 %).

Dans cette étude, les désinfectants de litière, c'est à dire le Vijetha et le Resham Jyothi sont aussi efficaces pour lutter contre la multiplication de la grasserie et de la flacherie bactérienne chez le ver à soie *Bombyx mori* L. Datta et coll., (1998) et Natraju et coll., (1997) ont rapporté que le Vijetha est un désinfectant de litière efficace contre toutes les maladies infectieuses du ver à soie y compris la grasserie et la flacherie. Le Resham jyothi est un désinfectant de litière à large portée efficace contre tous les pathogènes du ver à soie (Samson et coll., 1998 et Sasidharan et coll., 2000). La chaux utilisée comme désinfectant de litière dans cette expérience n'a une efficacité significative que pour réduire l'incidence de la grasserie (Tableau II). Iwashita et Zhou (1988) ont rapporté que les corps polyédraux de BmNPV se dissolvent rapidement quand on les trempe dans une solution saturée d'hydroxyde de calcium (solution de chaux dans de l'eau) et que les virions deviennent inactifs. Balavenkatasubbaiah et coll., (1994) ont fait une observation similaire (1994) quand ils ont rapporté que les corps polyédraux de NPV se dissolvent dans une solution de chaux à 0,3 %. Cela ressemble plus ou moins à l'application de RKO (qui contient 96 % de chaux ainsi que d'autres produits chimiques) (Anonyme, 1990).

Le RKO utilisé comme désinfectant de litière dans l'étude s'avère efficace contre NPV qui provoque la grasserie chez le ver à soie *Bombyx mori*. Ces résultats confirment les précédentes observations (Samson et coll., 1987 et Baig et coll., 1990). Nous en concluons donc que le taux de survie des larves, des nymphes et le rendement en cocons s'avèrent significativement élevés chez tous les lots traités contre la multiplication des maladies.

BREEDING OF “A NEW BIVOLTINE BREED” FOR LONGER FILAMENT LENGTH AND FINE DENIER BY UTILIZING THE STRAIN JPN OF *BOMBYX MORI* L.

G.V. KALPANA, H.K. BASAVARAJA, N. SURESH KUMAR & A.K. PALIT

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

Keeping in view of special reeling characters for industrial requirement, it is very much essential to develop bivoltine silkworm breeds for longer filament with fine denier since both are negatively correlated and the breeders are giving more scope and dimension in improving the productivity and quality of the silk. Majority of the productive silkworm breeds developed in India even though they are productive but they fail to express some of the qualitative traits. It is of utmost important to develop a breed with higher productivity and important qualitative character namely fine denier. Indian sericulture industry is in need of fine denier silk for the production of dress material and for the preparation of zari (gold coating on silk). The Indian silk yarn varies to a greater extent with regard to denier within a cocoon and also from outer layer to inner layer of the cocoon resulting in more size deviation. Utilization of such silk resulted in the manufacture of more uneven fabric and irregular coating of gold on the silk. In order to overcome these demerits of the sericulture industry, silkworm breeders planned for developing silkworm breeds with higher productivity and quality merits with special emphasis for the production of even silk. Keeping this in view, the present study envisaged to develop bivoltine silkworm breed with high productivity merits by utilizing a bivoltine breed JPN and subjecting it for directional selection to introduce longer filament and fine denier traits. Application of directional selection at earlier generation followed by inbreeding at later generation resulted in the development of JPN8 with non-significant differences ($P > 0.05$) at G11 and G12 generations for target traits. In order to maintain the original breed characters, two separate lines of JPN8 were maintained and inbred for another five generations. Non-significant differences ($P > 0.05$) between two generations indicates stability in the expression for filament length and denier in both the lines. The methodologies adopted for the breeding and maintenance of JPN8 for two important quality traits were discussed.

Keywords : JPN8, Fine denier, Longer filament, Size deviation and Directional selection

INTRODUCTION

In order to meet the dual demands such as improvement in quality and productivity traits, it is imperative to develop breeds with consumer specific characters. Halliyal *et al.*, (1998) opined that the breeders should design new breeding approaches to evolve productive bivoltine breeds for special characters such as longer filament, fine denier, higher tenacity, elongation, low sericin content and more compactness of the shell. In addition, even in the advanced sericulture countries such as China and Japan research in the said line resulted in the development of quite a good number of bivoltine breeds with consumer specific characters. The Japanese silkworm breeders succeeded in developing special character breeds namely, Akebono, Shin Akebono, Honobono and Hakugin for fine denier, Sakigake for thick denier, Asagiri, Shin Asagiri, Ariake for artificial diet, Hosho and Shungetsu for

low boil off loss, high pupation, less non spinning and less trimoulters. The sericultural institute of Chinese Agricultural Academy investigated the cocoon and silk quality in 354 races and categorized that there are 10 races for longer filament (>1200m), 29 races with 100 % lousiness, 17 races with reelability (> 95 %), 12 races with 97p neatness and 18 races with sericin content below 20 %. In addition to this, there are few more races with 27.4 % shell ratio, 1610 m filament length, 100 % reelability, 3.8 denier and 1.4 K denier, 98.4 p neatness and 22 % raw silk (c.f., Datta *et al.*, 1997).

The available bivoltine breeds in India are gifted with thick denier (2.8 to 3.3 d) with filament length ranging from 950m to 1200m. Even though, these breeds are known for high productivity merits but they fail to produce quality silk with less variations in the evenness of the yarn. Keeping this in view, a study was undertaken to develop silkworm breeds for fine denier and longer filament through directional selection breeding. One of the productive breeds JPN with 1200 m filament length and 2.9 denier was selected for the present study. Application of directional selection breeding from G1 to G12 resulted in the stabilization for the expression of target characters at G11.

The genetic worth of the breed is measured by the uniformity in the expression of characters. In order to study the purity of fine denier in the breed JPN8, two sources i.e., JPN8 – I and JPN8 - II were maintained by inbreeding for five generations and both the sources were breeding true for the target traits.

MATERIALS AND METHODS

A total of nine bivoltine breeds namely A24, A20C, JPN7, JPN, MBC2, A66, A69 (Ovals), B63 and B65 (Dumbbells) were drawn from germplasm bank of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore and were inbred for three generations to record the filament length and denier (Table I). Out of nine breeds, JPN with filament length of 1200 m and denier of 2.9 was selected for the improvement of the said traits through directional selection. Five disease free layings of JPN8 were reared individually by following the standard rearing technique of Krishnaswami, 1978 and Datta, 1992. At every generation, 300 larvae/dfls were retained after 3rd moult. The batches showing maximum pupation rate and cocoon uniformity were selected and from the selected batches, 10 male and 10 female cocoons were subjected to mono cocoon cold reeling technique. The females with longer filament and fine denier were crossed with the males showing longer filament length and fine denier. From G1, two batches were selected and were inbred (Flow chart). Directional selection for the target traits were applied from Generation I (G1) to Generation 12 (G12). From G1 to G8 inter-batch crossing was carried out to enhance the scope for selection. From G9 onwards, 10 replications of JPN8 were reared and intra-batch selection was carried out and the batch with longer filament and fine denier were inbred up to G12.

Two sources of JPN8 i. e., JPN8-I and JPN8 –II out of ten sources were identified at the end of G12. The selected sources were inbred for five generations in order to stabilize the expression of selected traits.

The appropriate statistical procedure i.e., one-way classification was employed to analyse the difference between generations/ replications during the course of breeding and maintenance of fine denier breed, JPN8.

The size deviation for every 100 m was studied in the fine denier breed, JPN8 by utilizing 10 cocoons and deviation in the size of the filament from outer layer to the inner layer of the cocoon was calculated by applying the formula:

$$\text{Denier for every 100 m} = \frac{\text{Wt. of silk for every 100 m}}{\text{Length (100 m)}} \times 9000$$

$$\text{Highest differential (Size deviation)} = \text{Maximum denier} - \text{Minimum denier}$$

RESULTS AND DISCUSSION

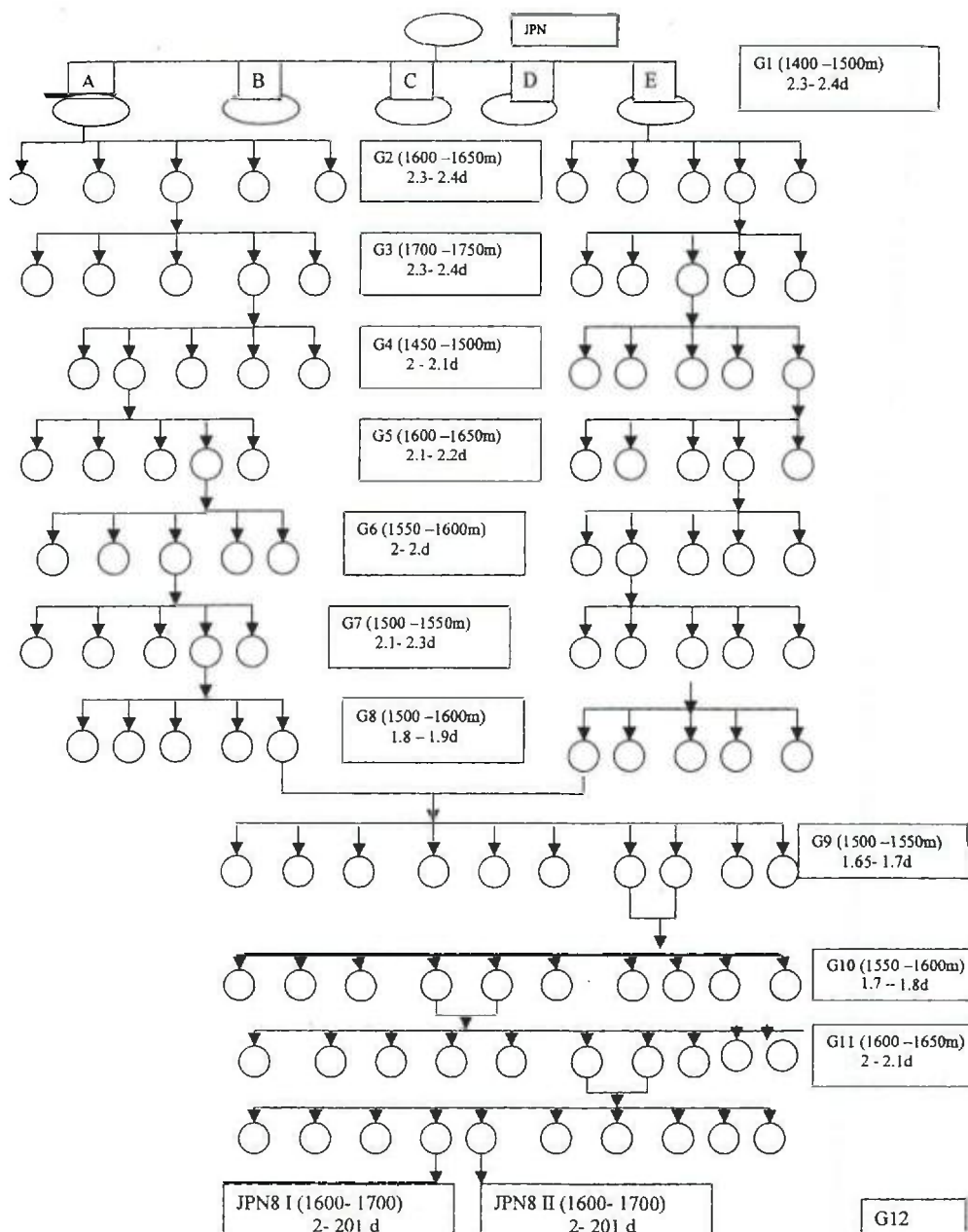
The breeding methodology followed for the development of fine denier breed by utilizing "JPN" is diagrammatically represented in the flow chart. At G1, five dfls of JPN were brushed and after mono-cocoon cold reeling, the cocoon with filament length ranging from 1400 to 1500 m with fine denier of 2.3 to 2.4 were selected for further continuation. Out of five sources, only two sources namely A and E were selected and resorted to cellular brushing of 5 dfls from each selected source and at every generation only one replication which exhibits maximum filament length and less denier were selected.

From G1 to G3, the filament length increased steadily and at G4 it decreased as compared to its previous generation. However, from G5 there was increase in filament length with decrease in denier. From G6 onwards, the cocoons with filament length above 1500 m were selected and after G8, the two sources were crossed as shown in the flow chart. From F9 onwards, 10 replications were reared and based on pupation rate, cocoon weight, shell weight, shell ratio percentage and cocoon uniformity (visual observation), two replications were selected and the cocoons with filament length above 1500 m with denier 1.65 – 1.7d were selected and inter-batch crossing was carried out. Similarly, inter-batch crossing was carried out from G9 to G11 and at G12 two sources were selected out of 10 replications for further inbreeding. At G12 both the sources i.e., JPN8-I and JPN8-II expressed similarity for filament length (1600 – 1700m) and denier 2 to 2.01d. Inbreeding of the two sources of JPN8-I and JPN8-II were continued. At G13, there was no difference for the expression of filament length and denier and further inbreeding of two sources expressed variation at G14 and G15 for filament length and for denier variation between two sources was observed at G15 and G17 (Fig.1A and Fig.1B). However, the variation observed for filament length and denier were not significant between two sources indicating stability for the expression of the targeted traits.

Table I. Performance of bivoltine silkworm breeds for special character (Mean of three trials)

Tableau I. Performance de lignées de vers à soie bivoltins pour des caractères spéciaux. (Moyenne de trois essais).

Breed	Selection		Without Selection <i>Sans sélection</i>	
	Filament length (m)	Filament size	Filament length (m)	Filament size
<i>Lignée</i>	<i>Longueur du filament (m)</i>	<i>Titre du filament</i>	<i>Longueur du filament (m)</i>	<i>Titre du filament</i>
A24	1639	1.81	1153	2.64
A20C	1470	2.03	1143	2.87
JPN7	1800	1.72	1159	3.10
JPN	1663	1.95	1201	2.90
MBC2	1466	1.80	1077	3.16
A66	1332	2.20	1098	2.77
A69	1394	2.24	1040	2.70
B63	1383	1.89	996	2.95
B65	1140	2.18	960	2.99
CD at 1%	253	0.32	-	-



Flow chart. Breeding plan of JPN8.

Ordinogramme - Plan de lignage de JPN8.

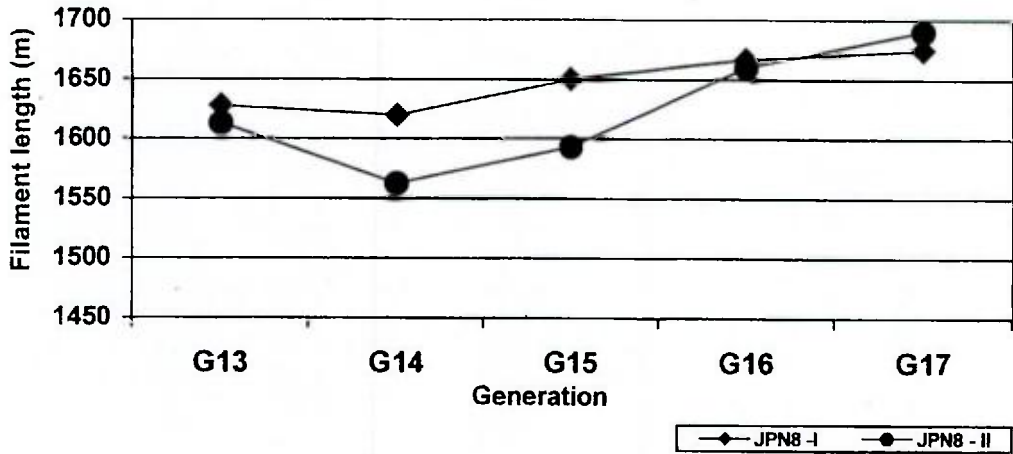


Fig. 1a. Maintenance of JPN8I and JPN8II for filament length. CD at 5% = 90.39 and 96.25.

Fig. 1a. Maintien de JPN8I et JPN8II pour la longueur du filament. DC à 5 % = 90,39 et 96,25.

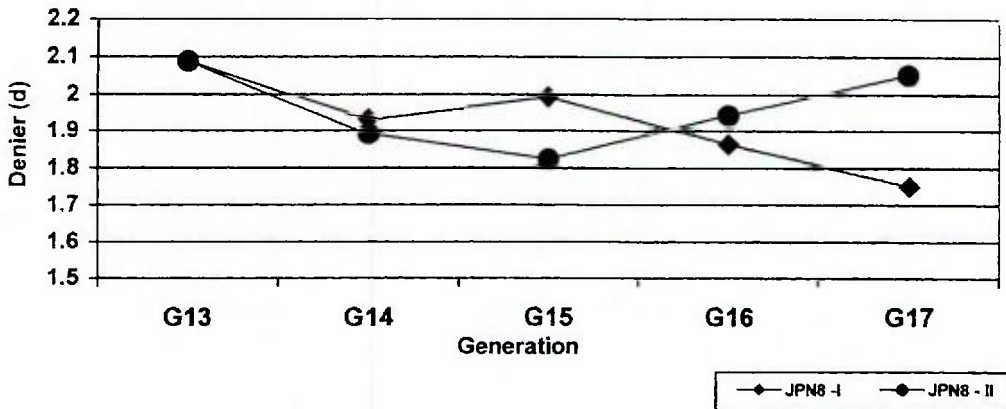


Fig. 1b. Maintenance of JPN8I and JPN8II for denier. CD at 5% = 0.11 and 0.13.

Fig. 1b. Maintien de JPN8I et de JPN8II pour le denier. DC à 5 % = 0,11 et 0,13.

Table I reveals the performance of bivoltine breeds for directional selection. Among the nine breeds, only two breeds namely JPN7 with 1159 m filament length and 3.1 denier and JPN with 1200 m filament length and 2.9 denier were identified as both the breeds responded positively for directional selection of targeted characters. However, only one breed JPN was selected for further continuation as it was gifted with good cocoon uniformity, survival, filament length and denier.

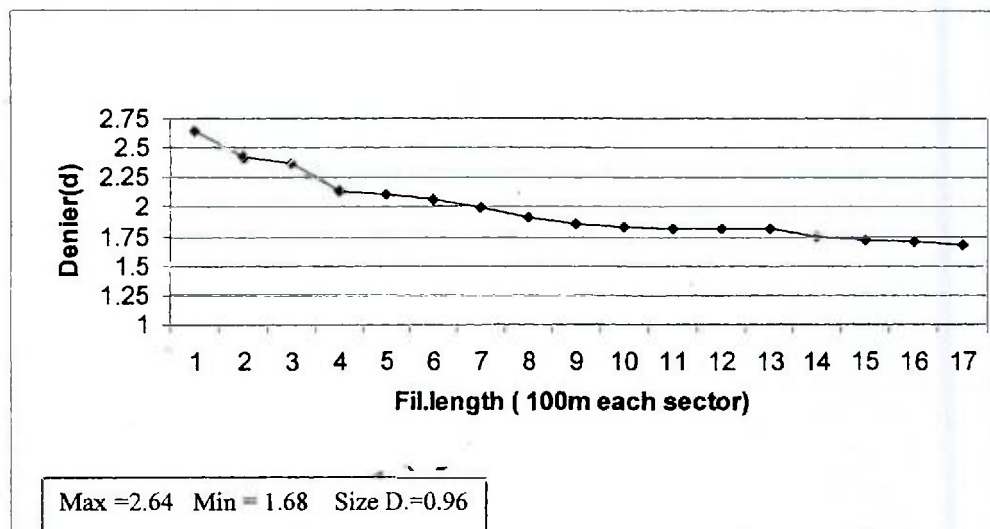


Fig. 2. Size deviation in JPN8.

Fig. 2. Déviation du titre chez JPN8.

Table II indicates the performance of JPN8 for all the metric traits before and after selection, while Table III shows the selection response of JPN8 for filament length and denier from G1 to G12. Fig. 1A and 1B depicts the performance of JPN8-I and JPN8-II for filament length and denier. Fig. 2 depicts the standard deviation for denier from outer most layer of the cocoon to innermost layer.

Comparative performance of fine denier breed, JPN8 before and after selection clearly indicates that there is not much variation for the expression of economic traits. This clearly reveals that the expression of all the metric traits remains the same and only filament length and denier expressed improvement indicating the effect of directional selection. The present findings parallel the work of Miyahara, 1978, who also studied the effect of directional selection on filament length and denier in the breed, MK and indicated improvement in the said traits. The overall performance of fine denier breed, JPN8 clearly indicates its high productivity with pupation rate above 90 %. In addition, the reelability percentage is slightly lower than the productive breed, JPN which parallels the findings of Oui and Yamashita (1977), who opined that the size of the cocoon filament has negative correlation with the length and less size of the filament with poor reelability. In the fine denier breed, "JPN8" slightly lower reelability is well compensated with longer filament length of 1600 m. As the filament length increases, the thickness of the yarn decreases. This decrease in the yarn thickness results in more breaks during the course of reeling resulting in lower reelability.

The directional selection response of JPN8 for filament length and denier expressed an increase in filament length and decrease in denier from G1 to G12 due to negative correlation between the two traits.

Table II. Performance of fine denier breed JPN8 before and after selection (Mean of 10 replication).

Tableau II. Performances de la lignée à denier fin JPN8 avant et après la sélection (Moyenne de 10 répétitions).

	Fecun -dity	TLD D : h	Pupation rate	Cocoon weight (g)	Shell weight (cg)	Cocoon shell ratio	Reelability (%)	Renditta	Raw silk (%)
	<i>Fécondité</i>	<i>TLD J : h</i>	<i>Taux de nymphe</i>	<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Poids de la coque (cg)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>	<i>Dévida- bilité (%)</i>	<i>Rendement à la bassine</i>	<i>Soie grège (%)</i>
Before selection / Avant la sélection									
Avg. / Moyenne	634	23 : 00	93.5	1.85	39.07	21.08	90.5	5.50	17.3
SD	72.86	0 : 12	3.91	0.20	2.86	0.83	4.95	0.55	0.95
CV (%)	11.49	2.17	4.17	10.81	7.32	3.94	5.79	11.22	5.49
After selection / Après la sélection									
Avg. / Moyenne	607	22 : 18	91.3	1.70	37.07	21.79	83.6	5.1	17.5
SD	69.36	0.18	6.00	0.13	3.50	0.71	3.50	0.37	0.64
CV (%)	11.42	3.29	6.57	7.48	9.44	3.25	4.18	7.25	3.66

TLD – Total larval duration / *Durée larvaire totale* ; D – Days / *Jours* ; h – Hours / *Heures*.

Table III. Directional selection response of JPN8 for filament length and denier.

Tableau III. Réponse de JPN8 à la sélection directionnelle pour la longueur du filament et le titre.

Generation	Filament length (m)	Denier (d)
	<i>Longueur du filament (m)</i>	
G1	1462	2.41
G2	1630	2.40
G3	1747	2.40
G4	1485	2.01
G5	1635	2.21
G6	1558	2.19
G7	1549	2.28
G8	1578	1.91
G9	1537	1.71
G10	1590	1.74
G11	1661	2.01
G12	1685	2.07
CD at 5%	36.9	0.06
C. V. %	1.37	1.74

However, in some generation i.e., at G4 where filament length is 1485 m (less when compared to G3) with denier of 2.01 there was an improvement in filament length i.e., 1635 m with increase in denier (When compared to G4) also. This type of variations is due to rearing condition and rearing season (Huang Guo Rui, 1998). Therefore, much emphasis was given to select the cocoons with longest filament length and lowest denier. This clearly shows positive trend for the improvement in filament length and decrease in denier with non-significant ($P > 0.05$) difference at G11 and G12 (Table III). These findings clearly indicate that selection response for single or two traits is very high when compared to multiple traits and are similar to the findings of Kobari and Fujimoto (1966) who also suggested that if the selection is made in relation to the filament length of the particular strain, the filament size changes in the reverse direction.

It is of utmost importance for the breeders to observe that the traits fixed through directional selection are good for breeding or not. Hence, after G12, the two sources of JPN8 were inbred for five generations to identify any undesirable genotypes that may be present in the population. Figure 1A clearly indicates variations in the two sources for the expression of filament length and among the two sources, the source I expressed less variability than source II. However, at G17, there was not much variation for the expression of filament length. For the trait denier, even though both the sources exhibited the same denier of 2.1 at G13 and 1.9 at G1, but at G15, G16 and G17 the denier of two sources varied to a greater extent. This is in concurrence with the earlier work of Huang Guo Rui, 1998 who opined that the filament size in the same breed varies in different seasons due to difference in temperature, humidity and quality of leaf. However, the results for the fixation of traits are well depicted in Fig. 1A and 1B where, two sources i.e., JPN8 I (F.L. = 1620 m to 1675 m; Denier 1.75 to 2.09 d) and JPN8 II (FL 1562 to 1690 m and denier 1.82 to 2.09 d) are showing non-significant ($P > 0.05$) differences between generations and are good for breeding for the target traits. This is similar to the earlier work (in the year 1987) of Yamamoto, who has isolated fine denier breed Akebono with 2.2 d. Further he improved it through inbreeding and isolated Shin Akebono with 2.1 d and filament length of 1600 m (Yamamoto, 1995).

It is well documented that the filament denier of single cocoon varies from outer layer to the innermost layer of cocoons. However, in fine denier breed, JPN8, the difference in the size deviation from outer to inner layer is minimum, which is less than 1 (Fig. 2). This parallels the earlier work of Halliyal *et al.*, 1997, who opined that "the cocoons with longer filament length gives a higher portion of middle layer resulting in more uniform raw silk yarn due to less number of castings and droppings. More the middle layer and more the compactness of cocoons, lesser the average size deviation". In addition, the fine denier silk of JPN8 is most appropriate to produce highly even fabric with more strength and with uniform dyeing as it is a well established fact that among many important characteristics like filament length and denier, denier variation along the length of single cocoon and among the cocoons within the population decides minimum and maximum denier variation of raw silk. The degree of variation is different in silkworm races (Mahadevappa *et al.*, 2000). The silkworm races superior in other characteristics but with higher degree of variation in size are not suitable to the silk reeling industry, as the uneven yarn results in variation of twist distribution. The use of uneven yarn in warp and weft for the manufacture of plain fabric creates variation in fabric and thus the prepared fabric creates variation in fabric weight along the length and width resulting in shape variation in dyed fabrics and bad appearance. The raw silk with higher maximum deviation results in more breaks during the manufacture of fabric and thus the prepared fabric will be having more knots. The high twisted yarn fabrics needs better quality yarn with less size deviation (Halliyal *et al.*, 1998).

Based on the above findings it can be concluded that the breed, JPN8 spinning oval white cocoons are gifted with high productivity merits with special characters i.e., longer filament length (> 1600 m), fine denier (1.85 to 2.09 d) and with less size deviation from outer to inner layer of the cocoon and are good for breeding for the expression of the target characters even after inbreeding for more than five generations (Fig. 1A and 1B).

REFERENCES

- DATTA. R.K. (1992). Guidelines for bivoltine rearing. Central silk Board.
- DATTA. R.K. & BASAVARAJA H.K.(1997). Silkworm breeding in Japan, China and India- A comparative analysis. In silkworm breeding, Oxford & IBH Pub.Co.Pvt.ltd., New Delhi, pp-18-38.
- HALLIYAL V.G., R. BHANDIWAD, V.V. HADIMANI & DANDIN. S.B.(1998). Influence on raw silk yarn and fabric quality. In silkworm breeding, Oxford & IBH Pub.Co.Pvt.ltd., New Delhi, pp-337-347.
- HUANG GUO RUI (1998). Silk reeling (Translated from Chinese). Oxford and IBH publishing co.Pvt.Ltd. pp.89-95.
- KOBARI K. & FUJIMOTO N., (1966). On the selection in the silkworm in relation to the length and the size of the cocoon filament. J. Sericult.Sci.Jpn, 35, (6)427- 433.
- KRISHNASWAMI S. (1978). New Technology of Silkworm Rearing, Bulletin No. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, pp.1-24.
- MAHADEVAPPA.D., HALLIYAL V.G., SHANKAR.D.G. & BHANDIWAD.R.(2000). Mulberry silk reeling technology, Oxford and IBH Publishing Co.Pvt., New Delhi.
- MIYAHARA T. (1978). On the subject of the selection of the original silkworm race for longer filament length(MK)- specially on the selection effect at the later generations. Sansi-Kenkyu (Acta Sericologica), 106 (4), 73-88.
- OUIH. & YAMASHITA, A (1977). On breeding of the silkworm races J137 and C137. Bull. Sericult. Exp. Stn.,27(1)97-139.
- YAMAMOTO T., MASE K. & ENOKIJIMA M.(1995). Breeding of polyphagous silkworm races with a thin cocoon filament. Bull. Natnl. Inst. Seric. Entomol. Sci.,15, pp.47-62.

OBTENTION D'UNE NOUVELLE LIGNEE BIVOLTINE AU FILAMENT PLUS LONG ET AU DENIER FIN EN UTILISANT LA SOUCHE JPN DE *BOMBYX MORI* L.

G. V. KALPANA, H. K. BASAVARAJA, N. SURESH KUMAR & A. K. PALIT

Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore – 570 008, Karnataka, Inde.

Compte tenu des caractéristiques spéciales du dévidage pour les besoins industriels, il est essentiel de mettre au point des lignées de vers à soie bivoltins pour obtenir un filament plus long et un denier fin puisqu'ils sont tous les deux négativement corrélés et que les sélectionneurs accordent plus d'importance et d'attention à l'amélioration de la productivité et de la qualité de la soie. La majorité des lignées de vers à soie mises au point en Inde bien qu'elles soient productives n'arrivent pas à exprimer certains des traits qualitatifs. Il est impératif de mettre au point une lignée à la productivité plus élevée et aux caractères qualitatifs améliorés c'est à dire au titre faible. L'industrie séricicole indienne a besoin d'une soie de faible titre pour la production de tissus pour les robes et pour la préparation du zari (revêtement d'or sur soie). Le denier du fil de soie indien varie considérablement à l'intérieur du cocon et aussi de la couche externe à la couche interne du cocon, ce qui entraîne une faible régularité du titre. L'utilisation de cette soie entraîne la production de tissu inégal et les revêtements d'or sur la soie sont irréguliers. Pour surmonter ces inconvénients, les sélectionneurs ont prévu la mise au point de lignées de vers à soie à la productivité plus élevée et avec des caractères qualitatifs améliorés en accordant une attention plus particulière à la production de fil régulier. Compte tenu de cela, cette étude s'est proposée de mettre au point une lignée de vers à soie bivoltine à la productivité élevée en utilisant une lignée bivoltine JPN et en la soumettant à la sélection directionnelle pour introduire des caractéristiques de filament plus long et de titre fin. L'application de la sélection directionnelle à la génération la plus précoce suivie par la consanguinité à la dernière génération a permis la mise au point de JPN8 avec des différences non significatives ($P > 0,05$) aux générations G11 et G12 pour les caractères ciblés. Pour conserver les caractères originaux de la lignée, on maintient et on élève en consanguinité deux lignées séparées de JPN8 pendant cinq autres générations. Des différences non significatives ($P > 0,05$) entre deux générations indiquent la stabilité de l'expression de la longueur du filament et du denier chez les deux lignées. Nous présentons les méthodologies adoptées pour le lignage et le maintien de JPN8 pour ces deux caractères qualitatifs importants.

INTRODUCTION

Pour répondre aux demandes contradictoires d'amélioration des caractères qualitatifs et productifs, il est impératif de mettre au point des lignées aux caractères spécifiques pour les consommateurs. Haliyal et coll., (1998) pensent que les sélectionneurs devraient concevoir de nouvelles approches de lignage pour mettre au point des lignées bivoltines productives aux caractères spéciaux : filament plus long, denier fin, résistance et allongement plus importants, faible teneur en séricine et coque plus compacte. De plus, dans les pays avancés sur le plan séricicole tels que la Chine et le Japon, la recherche avec ces lignées a permis la mise au point d'un assez grand nombre de lignées bivoltines aux caractères spécifiques pour le consommateur. Les sélectionneurs de vers à soie japonais

ont réussi à mettre au point des lignées aux caractères spéciaux, à savoir Akebono, Shin Akebono, Honobono et Hakugin au denier fin, Sakigake au denier épais, Asagiri, Shina Asagiri, Ariake pour l'aliment artificiel, Hoshio et Shungetsu dont la perte au décreusage est faible, la nymphose élevée, le filage plus important et qui ont moins de trimuants. L'institut séricicole de la *Chinese Agricultural Academy* a étudié la qualité du cocon et de la soie chez 354 races et a classé en catégories 10 races au filament plus long (> 1200 m), 29 races avec 100 % de perlage, 17 races avec une dévidabilité supérieure à 95 %, 12 races avec 97 points de netteté et 18 races avec une teneur en sérécine en dessous de 20 %. En plus de cela, quelques races avec 27,4 % de richesse soyeuse, un filament de 1 610 m de longueur, 100 % de dévidabilité, un denier de 3,8 et un denier de 1,4 K, une netteté de 98,4 p et 22 % de soie grège ont été obtenues (c. f. Datta et coll., 1997).

Les lignées bivoltines disponibles en Inde sont dotées d'un filament épais (2,8 à 3,3) et dont la longueur est comprise entre 950m et 1200 m. Bien que ces lignées soient connues pour leur productivité élevée, elles donnent une soie dont le fil a une variation du titre élevée. Compte tenu de cela, nous avons entrepris cette étude pour mettre au point des lignées de vers à soie au titre faible et au filament plus long grâce au lignage par sélection directionnelle. Une des lignées productives JPN avec un filament de 1200 m et un denier de 2,9 a été sélectionnée pour cette étude. L'application du lignage par sélection directionnelle de G1 à G12 a entraîné la stabilisation de l'expression des caractères ciblés en G11.

On mesure la valeur génétique de la lignée d'après l'uniformité de l'expression des caractères. Pour étudier la pureté du denier faible chez la lignée JPN8, on maintient deux sources c'est à dire JPN8 – I et JPN8 – II par élevage consanguin pendant cinq générations et les deux sources conviennent pour le lignage des traits ciblés.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons pris neuf lignées bivoltines à savoir A24, A20C, JPN7, JPN, MBC2, A66, A69 (cocons ovales), B63 et B65 (cocons cintrés) dans la banque génétique du *Central Sericultural Research and Training Institute*, à Mysore qui ont été élevées en consanguinité pendant trois générations pour enregistrer la longueur du filament et le denier (Tableau I). Sur neuf lignées, on a sélectionné JPN au filament de 1200 m et au denier de 2,9 pour l'amélioration des caractères en question par la sélection directionnelle. Cinq pontes saines de JPN8 sont élevées individuellement en suivant la technique d'élevage habituelle de Krishnaswami (1978) et de Datta (1992). A chaque génération, on retient 300 larves / ponte saine après la 3^{ème} mue. Les lots dont les cocons ont un taux de nymphose et une uniformité maximum sont sélectionnés et à partir des lots sélectionnés, on dévide à froid individuellement 10 cocons mâles et 10 cocons femelles. Les femelles au filament plus long et au denier fin sont croisées avec les mâles au filament le plus long et à denier fin. A partir de G1, on sélectionne deux lots et on les élève en consanguinité (ordinogramme). On applique la sélection directionnelle pour les caractères ciblés de la génération 1 (G1) à la génération 12 (G12). De G1 à G8, on procède à un croisement entre lots pour améliorer l'efficacité de la sélection. A partir de G9, on élève 10 répétitions de JPN8 et on procède à une sélection à l'intérieur du lot et le lot au filament le plus long et au denier le plus fin est élevé par consanguinité jusqu'à G12.

On identifie deux sources de JPN8, c'est à dire JPN8-I et JPN8-II sur dix sources à la fin de G12. Les sources sélectionnées sont élevées par consanguinité pendant cinq générations de manière à stabiliser l'expression des caractères sélectionnés.

On emploie la procédure statistique appropriée, c'est à dire une classification à un facteur pour analyser la différence entre les générations / répétitions au cours du lignage et pour maintenir une lignée JPN8 au denier fin.

On étudie la régularité du titre de la lignée à denier fin, JPN8 tous les 100 m en utilisant 10 cocons et on calcule la régularité du titre du filament de la couche externe à la couche interne du cocon en appliquant la formule :

$$\text{Denier pour tous les 100 m} = \frac{\text{Poids de la soie tous les 100 m}}{\text{Longueur (100 m)}} \times 9000$$

Différence la plus élevée (régularité du titre) = Denier maximum – denier minimum

RESULTATS ET DISCUSSION

La méthodologie de lignage suivie pour la mise au point de la lignée à denier fin en utilisant " JPN " est représentée schématiquement dans l'ordinogramme. En G1, on lève cinq pontes de JPN et après un dévidage à froid individuel des cocons, on sélectionne les cocons au filament compris entre 1400 et 1500 m et au denier fin de 2,3 à 2,4. Sur cinq sources, on sélectionne seulement deux sources en l'occurrence A et E et on a recours à une levée cellulaire de 5 pontes saines à partir de chaque source sélectionnée et à chaque génération on sélectionne seulement une répétition qui présente la longueur de filament maximum et le denier le plus fin.

De G1 à G3, la longueur du filament augmente régulièrement et en G4, elle baisse par comparaison à la génération précédente. Cependant, à partir de G5, il y a une augmentation de la longueur du filament avec une diminution du denier. A partir de G6, les cocons dont le filament fait plus de 1500 m sont sélectionnés et après G8, les deux sources sont croisées comme le montre l'ordinogramme. A partir de F9, on élève 10 répétitions et d'après le taux de nymphose, le poids du cocon, le poids de la coque, le pourcentage de richesse soyeuse et l'uniformité du cocon (observation visuelle), on sélectionne deux répétitions et on sélectionne les cocons au filament supérieur à 1500 m, au titre de 1,65 – 1,7 d et on procède à un croisement entre les lots. De même, on procède à un croisement entre lots de G9 à G11 et en G12, on sélectionne deux sources sur dix répétitions pour les élever à nouveau de manière consanguine. En G12, les deux sources c'est à dire JPN8-I et JPN8-II ont un filament d'une longueur similaire (1600 – 1700 m) et un denier de 2 à 2,01d. On continue l'élevage par consanguinité des deux sources JPN8-I et JPN8-II. En G13, il n'y a pas de différence d'expression pour la longueur du filament et pour la variation du denier et l'élevage consécutif par consanguinité des deux sources exprime une variation en G14 et G15 pour la longueur du filament et une variation du denier entre les deux sources en G15 et G17 (Fig. 1A et Fig. 1B). Cependant, les variations observées pour la longueur du filament et le denier ne sont pas significatives entre les deux sources, ce qui indique la stabilité de l'expression des caractères ciblés.

Le Tableau I montre la performance des lignées bivoltines pour la sélection directionnelle. Parmi les neuf lignées, on identifie seulement deux lignées à savoir JPN7 avec un filament de 1159 m et un denier de 3,1 et JPN au filament de 1200 m et au denier de 2,9 car les deux lignées répondent de manière positive à la sélection directionnelle des caractères ciblés. Cependant, seule une lignée JPN est sélectionnée pour la suite car elle est dotée de cocons dont l'uniformité, la survie, la longueur de filament et le denier sont bons.

Le Tableau II indique la performance de JPN8 pour tous les caractères métriques avant et après la sélection tandis que le Tableau II présente la réponse de JPN8 à la sélection pour la longueur du filament et le denier de G1 à G12. Les Figs 1A et 1B montrent la performance de JPN8-I et JPN8-II pour la longueur du filament et le denier. La Fig. 2 montre l'écart type pour le denier de la couche la plus externe du cocon à la couche la plus interne.

La performance comparative de la lignée à denier fin JPN8 avant et après la sélection indique clairement qu'il n'y a pas beaucoup de variation pour l'expression des caractères économiques. Cela révèle clairement que l'expression de tous les caractères métriques reste la même et seule la longueur du filament et le denier s'améliorent sous l'effet de la sélection directionnelle. Ces observations

confirment le travail de Miyahara, 1978, qui a aussi étudié l'effet de la sélection directionnelle sur la longueur du filament et le titre chez la lignée MK et observé l'amélioration des caractères en question. La performance générale de la lignée à titre fin, JPN8, indique clairement sa productivité élevée avec un taux de nymphose supérieur à 90 %. De plus, le pourcentage de dévidabilité est légèrement plus faible que celui de la lignée productive, JPN ce qui confirme les observations de Oui et de Yamashita (1977) selon lesquels le titre du filament de cocon a une corrélation négative avec la longueur et un titre inférieur de filament avec une mauvaise dévidabilité. Chez la lignée à denier fin " JPN8 ", une dévidabilité légèrement plus faible est compensée par un filament plus long de 1600 m. Comme la longueur du filament augmente, le titre du fil diminue. Cette diminution de l'épaisseur du filament entraîne plus de casses au cours du dévidage, ce qui entraîne une dévidabilité inférieure.

La réponse de JPN8 à la sélection directionnelle pour la longueur du filament et le titre exprime une augmentation de la longueur du filament et une baisse du titre de G1 à G12 à cause d'une corrélation négative entre les deux caractères.

Cependant, à une certaine génération, c'est à dire en G4 où la longueur du filament est de 1485 m (inférieure à G3) avec un denier de 2,01, il y a une amélioration de la longueur du filament, c'est à dire 1635 m avec aussi une augmentation du denier (par comparaison à G4). Ce type de variations est dû aux conditions d'élevage et à la saison d'élevage (Huang Guo Rui, 1998). On a donc beaucoup mis l'accent sur la sélection de cocons au filament plus long et au denier plus fin. Cela montre clairement une tendance positive pour l'amélioration de la longueur du filament et pour la diminution du titre avec une différence non-significative ($P > 0,05$) en G1 et G12 (Tableau III). Ces observations indiquent clairement que la réponse à la sélection pour un ou deux caractères est très élevée par comparaison à celle pour des caractères multiples, ce qui confirme les observations de Kobari et Fujimoto (1966) qui ont aussi suggéré que si on fait une sélection chez une souche particulière pour la longueur du filament, le titre du filament change dans la direction opposée.

Il est de la plus grande importance pour les sélectionneurs d'observer si les caractères fixés par la sélection directionnelle sont bons pour le lignage. Ainsi, après G12, on élève les deux sources de JPN8 par consanguinité pendant cinq générations pour identifier certains génotypes non désirables, qui pourraient être présents dans la population. La figure 1A montre clairement des variations entre les deux sources pour la longueur du filament et la source I exprime moins de variabilité que la source II. Cependant, en G17, il n'y a pas beaucoup de variabilité pour la longueur du filament. Pour le caractère du titre, bien que les deux sources présentent le même titre de 2,1 deniers en G13 et de 1,9 en G1, en G15, G16 et G17 le denier des deux sources varie de manière plus importante. Cela confirme les études précédentes de Huang Guo Rui, 1998 selon lequel le titre du filament chez la même lignée varie au cours des saisons en raison de la différence de température, d'humidité et la qualité de la feuille. Cependant, les résultats pour la fixation des caractères sont bien décrits dans la Fig. 1A et 1B où deux sources, c'est à dire JPN8I (L. F. 1620 m à 1675 m ; titre 1,75 à 2,09d) et JPN8 II (L. F. 1562 à 1690 m et titre de 1,82 à 2,09d) présentent des différences non significatives ($P > 0,05$) entre les générations et sont bonnes pour le lignage des caractères ciblés. Cela est similaire aux travaux précédents (en 1987) de Yamamoto, qui a isolé une lignée à titre fin Akebono avec 2,2 d. De plus, il l'a améliorée par consanguinité et il a isolé Shin Akebono de 2,1 d et au filament de 1600 m (Yamamoto, 1995).

Il existe beaucoup de documentation sur le fait que le titre du filament d'un cocon varie de la couche externe à la couche la plus interne des cocons. Cependant, chez la lignée à titre fin JPN8 la différence de régularité du titre de la couche externe à la couche interne est minimum c'est à dire qu'elle est inférieure à 1 (Fig. 2). Cela confirme les travaux précédents d'Halliyal et coll., 1997, selon lesquels " les cocons au filament plus long donnent une proportion plus élevée de couche moyenne, ce qui entraîne un fil de soie grège plus uniforme en raison d'un nombre inférieur de nœuds et de cassures ". Plus la couche moyenne est importante et plus les cocons sont compacts plus il y a une régularité du titre. De plus la soie à titre fin de JPN8 est plus appropriée pour produire un tissu très égal, plus résistant et à la teinture plus uniforme puisqu'il est de notoriété que parmi les nombreuses

caractéristiques importantes comme la longueur du filament et le denier, la variation du denier le long d'un cocon unique et parmi les cocons à l'intérieur d'une population décide de la variation minimum et maximum du titre de la soie grège. Le degré de variation est différent selon les races de vers à soie (Mahadevappa et coll., 2000). Les races de ver à soie supérieures pour d'autres caractéristiques mais dont le titre varie plus ne sont pas adaptées au dévidage industriel de la soie, puisqu'un fil inégal entraîne une variation de la distribution des torsions. L'utilisation d'un fil inégal pour la chaîne et pour la trame pour la fabrication d'un tissu uni entraîne des variations de tissu et une variation du poids du tissu dans sa longueur et sa largeur, ce qui entraîne une variation de la forme des tissus teints et une mauvaise apparence. La soie grège avec une déviation maximale plus élevée entraîne plus de casse pendant la fabrication du tissu et le tissu préparé aura donc plus de nœuds. Le tissu au fil très ouvré nécessite un fil de meilleure qualité au titre plus régulier (Halliyal et coll., 1998).

D'après ces observations, on peut conclure que la lignée JPN8 qui file des cocons ovales blancs est dotée d'une productivité élevée et de caractères spéciaux, à savoir un filament plus long (> 1600 m), un titre fin (1,85 à 2,09 d) et une meilleure régularité du titre de la couche externe à la couche interne du cocon ; elle est adaptée pour le lignage et l'expression des caractères désirés même après un élevage consanguin pendant plus de cinq générations (Fig. 1A et 1B).

OAK DESCRIPTOR

P. K. SRIVASTAV, N. IBOHAL SINGH & B. R. R. P SINHA*

Regional Tasar Research Station, Imphal – 795 002, India.

*The genetic variability in oak species, the food plant of **Antheraea proylei** J. In India, could not be exploited so far due to lack of a descriptor. Hence, an oak descriptor has been proposed which is based on studies conducted on 52 accessions of both **Quercus** and **Lithocarpus** species from Manipur. The descriptor includes 120 characters belonging to nine major groups i. e. phytogeography, gross morphology, reproductive biology, anatomy, cytology, growth / yield attributes, quality parameters, responses to different cultivation practices and resistance to various pests and disease. The proposed descriptor is likely to serve as a ready reckoner for morphological and agronomical descriptions of the genotypes / varieties besides serving as a model for quick review of features of genotypes.*

Keywords: *Quercus*, *Lithocarpus*, oak tasar culture, descriptor, variability, genotype, exploration, identification, characterisation.

INTRODUCTION

Earth is home of approximately 240,000 species of plants of which only about 5,000 have been carefully studied (Anderson *et al.*, 1988) of approximately 15,000 species of higher plants about one third constitutes the useful plant wealth which includes 1 500 food plants also (Paroda and Arora, 1992) though, as it is today, mankind, by and large is dependent on 25 to 30 food plants (Harlan, 1975).

Vavilov (1926) first realised the need for broad genetic base for any crop plant improvement and his realisation induced naturalists to accumulate as much information as possible regarding the existing genetic variability of plant as well as animal as prerequisites for any breeding programme. Therefore, vast explorations, collection, characterisation and cataloguing of genetic material have become essential elements of any genetic improvement programme.

Germplasm is indeed, a collection of assembled or unassembled plant material used for crop improvement or related research (Creech and Reitz, 1971). Germplasm is not only man most vulnerable natural resources but it has also been the source of genes and genotypes to modify and protect the crops. It also facilitates a breeder to choose the right material for specific purposes. Thus germplasm of a crop may be defined as the total sum of hereditary material, i. e. all the alleles of various genes, present in lines, strains, varieties, cultivars of a crop species and its wild relatives. So germplasm of the crop is the total sum of genetic variability available in the genus. The effective utilization of germplasm depends on systematic exploration, characterisation and identification of genotypes with specific traits.

Owing to the fast spread of sericulture and tropical tasar culture to different Indian states and tropical countries, the need for a mulberry and *Terminalia* descriptors with specific characters was felt long back and, hence mulberry and *Terminalia* descriptors were prepared (Dandin and Jolly, 1986;

* Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi.

Srivastav et al., 1997). Oak tasar culture has also been transforming into an industry of immense economic potentiality besides protecting geologically fragile Himalayan environment through various oak species which serve as food plant of temperate tasar silkworms. Hence, the need for superior varieties / genotypes of oak has been very much felt in order to enhance the tasar silk production ecosystem. Due to lack of any descriptor for oaks, the primary food plant of *Antheraea proylei* J., this valuable genetic variability could not be exploited so far.

Hence, an attempt is being made to formulate descriptor of oak particularly for *Quercus* and *Lithocarpus* species which may be acceptable to International Compendium Programme and International Bureau of Plant Genetic Resources (IBPGR) now called International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) as a model to describe different taxa.

MATERIALS AND METHODS

Oaks belong to family Fagaceae which comprises of four genera i. e. *Quercus*, *Lithocarpus*, *Castanea* and *Castanopsis*. *Quercus* Linn., the largest genus in family comprises of more than 400 species (Trelease, 1924, Camus, 1936 et. Seq.). Out of the two subgenera of *Quercus*, subgenus *Cyclobalanopsis* has few species but greater diversity of reproductive morphology than subgenus *Quercus*. The modern centre of morphological diversity in the family and in *Quercus* is in south-eastern Asia and adjacent Pacific islands which may be the ancestral home of the family (Kaul, 1985). In India, more than 35 species of oaks have been reported out of which 15 species belong to genus *Quercus* distributed along sub Himalayan belt between 2000-9000 ft. AMSL from Kashmir to Arunachal Pradesh, Assam, Meghalaya, Mizoram, Nagaland and Manipur. In North-eastern India, *Q. serrata* (syn. *Q. acutissima*), *Q. semecarpifolia* and *Q. griffithii* have been found as the most suitable species for rearing of *Antheraea proylei* J. and *A. roylei* whereas *Lithocarpus dealbata* (syn. *Q. dealbata*) serves as the primary host plant of *A. proylei*. Besides, *Q. serrata* has also been introduced there from Manipur through seeds.

Oaks occur gregariously and make regular altitudinal zones in North-Western Himalayan regions (Negi and Naithani, 1995). Oak populations from diverse sources have not evolved uniformly because the vast area occupied by them is highly diversified climatically, edaphically and also geographically. The occurrence of tremendous inter-and intra-specific variability due to varied ecological conditions coupled with open pollination through anemophily (Kaul, 1985) has made genus *Quercus* genetically very rich.

The explorations were carried out in seven out of nine districts of Manipur i.e. Imphal (East) Imphal (West), Thoubal, Bishnupur, Ukhrul, Senapati, Churachandpur and Chandel districts for *Q. serrata*, *Q. griffithii* and *Lithocarpus dealbata* (Srivastav and Singh, 1997, 2002, Srivastav et al., 2002). Besides, preliminary explorations carried out for *Q. semecarpifolia* in Himachal Pradesh (Rajaram et al., 1998) were also taken into consideration. A total of 34 candidate trees were selected in *Q. serrata*, 8 candidate trees in *Q. griffithii*, three candidate trees in *Lithocarpus dealbata* in Manipur and 7 morphotypes in *Q. semecarpifolia* in Himachal Pradesh and average values of the morphological observations were recorded.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The variations occur within the oak species with respect to foliar, seed morphology as well as leaf sprouting, maturity behaviour and responses to rooting through air layering. Sometimes these variations are so drastic that they might warrant division of *Quercus* species into several varieties / species. The *Quercus serrata* complex exhibits continuous rather than discontinuous variations at the levels of shape, texture, margin, apex, base, size, numbers of lateral veins and weight of single leaves as well as size, weight, shape, texture and involucres of fruits (Table I).

Table I. Variations encountered in *Q. serrata* Auct. Non Thunb. syn. *Q. acutissima* Carr.Tableau I. Variations rencontrées chez *Q. serrata* Auct. Non Thunb. syn. *Q. acutissima* Carr.

CHARACTERS / CARACTÈRES	VARIATIONS
A. LEAF CHARACTERS / CARACTERES DE LA FEUILLE	
1. Shape <i>Forme</i>	Oblong, obovate, lanceolinear, lanceolate, oblanceolate, elliptic, spatulate, cuneate. <i>Oblongue, obovale, lancéolinéaire, lancéolée, oblancéolée, elliptique, spatulée, cunéiforme</i>
2. Texture	Deep or light green, both sides glabrous or glabrous above and pubescent beneath, thick medium or thin (papery) <i>Vert foncé ou clair, les deux côtés glabres ou glabres au-dessus et velus en-dessous, moyennement épaisse ou fine, de l'épaisseur d'une feuille de papier</i>
3. Margin <i>Bord</i>	Awn tipped and undulate / <i>serrata</i> / <i>dentata</i> <i>Bordé d'une barbe et ondulé, denticulé, dentelé</i>
4. Apex <i>Sommet</i>	Acute/ obtuse / acuminate / mucronate <i>Pointu / obtus / acuminé / mucroné</i>
5. Base	Acute / obtuse / cuneate / <i>Pointue / obtuse / cunéiforme</i>
6. Size <i>Taille</i>	Small, medium or large (8-20 × 2.5 – 8cm) <i>Petite, moyenne ou grande (8-20 × 2,5 – 8cm)</i>
7. L/B ratio / Ratio L/B	2.57 – 5.2
8. No of lateral veins <i>Nbre de nervures latérales</i>	10-20 pairs <i>10 – 20 paires</i>
9. Weight <i>Poids</i>	Light (0.6 g) or heavy (1.1 g) depending upon morphotype <i>Léger (0,6 g) ou lourd (1,1 g) en fonction du morphotype</i>
10. Leaf colour during sprouting <i>Couleur de la feuille pendant le bourgeonnement</i>	Violet – green <i>Violet – vert</i>
11. Arrangement <i>Disposition</i>	Spiral or opposite superposed, alternate rarely <i>En spirale ou superposées à l'opposé, rarement alternées</i>
12. Maturity / Maturité	Faster, medium, slower / <i>Rapide, moyenne, plus lente</i>
13. No. of leaves in pruned bushes <i>Nbre de feuilles des buissons taillés</i>	2000 – 2500
14. No. of branches in pruned plants <i>Nbre de branches des plants taillés</i>	26-103
(B) FRUIT CHARACTERS / CARACTERES DES FRUITS	
1. Size <i>Taille</i>	Small, medium or big sized (1.8 – 2.8 × 1.1 – 1.8 cm) <i>Petite, moyenne ou de grande taille (1,8 – 2,8 × 1,1 – 1,8 cm)</i>
2. Weight <i>Poids</i>	Light (1.99 – 2.0 g), medium (2.0 – 2.99 g) or heavy (3.0 – 3.99 g) <i>Léger (1,99 – 2g), moyen (2 – 2,99g) ou lourd (3 – 3,99g)</i>
3. Shape <i>Forme</i>	Ovoid / ellipsoid / oblong / globose / subglobose <i>Ovoïde / ellipsoïde / oblongue / globose / subglobose</i>
4. Texture	Glabrous, shining / dull / <i>Glabre, brillante / terne</i>
5. Involucre	Cup covering the 1/3 nut, ½ or more than 2/3 of the nut <i>Calice couvrant 1/3 du noyau, ½ ou plus des 2/3 du noyau</i>
6. Germination percentage <i>Pourcentage de germination</i>	Light (68.6%), medium (72.7%) and heavy (76.3%) <i>Faible (68,6 %), moyen (72,7 %) et important (76,3 %)</i>
7. Germination period (days) <i>Durée de germination (jours)</i>	Light (13-33), medium (13-31), heavy (13-27) <i>Courte (13–33), moyenne (13-31), longue (13-27)</i>

Table II. Morphological variations encountered in *Q. griffithii*.Tableau II. Variations morphologiques rencontrées chez *Q. griffithii*.

CHARACTERS / CARACTERES	VARIATIONS
A. FOLIAR CHARACTERS / CARACTERES FOLIAIRES	
1. Shape Forme	Obovate-oblong or oblanceolate Obovale et oblongue ou oblancéolée
2. Texture	Deep or light green, coarse to smooth above and minutely hairy beneath, coriaceous or papery Vert foncé ou clair, rugueux ou lisse au-dessous et légèrement velu en-dessous, coriace ou semblable à du papier
3. Margin Bord	Coarsely dentate or serrata, usually entire towards the base Grossièrement dentelé ou denticulé, habituellement entier vers la base.
4. Apex Sommet	Acute, subacuminate or acuminate Pointu, subacuminé ou acuminé
5. Base	Sub-cordate or obtuse / Sub-cordée ou obtuse.
6. Size / Taille	10-28 × 5-12 cm.
7. L / B ratio / Ratio L / B	2.0 – 2.4
8. No of lateral veins	08-16 pairs
9. Weight Poids	Light (0.5 g) to heavy (4.3 g) depending upon size Léger (0,5 g) à lourd (4,3 g) en fonction de la taille
10. Colour of leaf during sprouting Couleur de la feuille pendant le bourgeonnement	Brick coloured to pale green Couleur brique à vert pâle
11. Arrangement Disposition	Spiral, condensed towards branch apex En spirale, regroupés vers le sommet des branches
12. Maturity rate Taux de maturité	Medium to slower De moyen à plus lent
13. No. of leaves in pruned bushes Nb de feuilles des branches taillées	1300 – 2300
14. No. of branches in pruned plants Nb de branches des plants taillés	30-60
B. FRUIT CHARACTERS / CARACTERES DU FRUIT	
1. Size Taille	Small medium or big size (0.7 – 2.6 × 0.3 – 0.7 cm) Taille petite, moyenne ou grande (0,7 – 2,6 × 0,3 – 0,7 cm)
2. Weight Poids	Light (0.9 g), medium (1.62g) or heavy (1.20 g) Léger (0,9 g), moyen (1,62 g) ou lourd (1,20 g)
3. Shape Forme	Ovoid, ellipsoid, oblong Ovoïde, ellipsoïde, oblongue
4. Texture	Glabrous, shining / dull Glabre, brillante / terne
5. Fruiting involucre Involucre fructifère	Cup covering one third of the nut Calice recouvrant un tiers du noyau
6. Germination percentage Pourcentage de germination	49-94%.
7. Germination period Durée de germination	10-160 days 10 à 160 jours

OAK (*QUERCUS* / *LITHOCARPUS*) DESCRIPTOR

I. PHYTOGEOGRAPHICAL INFORMATION:

1. **Botanical names:**
2. **Common / varietal name:**
3. **Origin:** Indigenous / Exotic (country / state / province)
4. **Wild or cultivated:**
5. **If cultivated**
 - a) Mode of origin: Introduction / selection / hybrid / polyploid / mutant etc.
 - b) Areas of cultivation: Subtropical / subtemperate (North-eastern / North western)
6. **Altitude of distribution:**

II. MORPHOLOGICAL CHARACTERS:

1. **Habit :** Tree / bush ; deciduous / evergreen
2. **Branching nature:** Erect / spreading / drooping.
3. **Colour of the stem bark:** Light gray / dark gray / black.
4. **Bark**
 - a) Nature: Smooth / rough / cracked / fissured
 - b) Thickness
5. **Leaf**
 - a) Internodal distance: Top (1-7) leaf, middle (8-15) leaf base (below 15th leaf in a branch)
 - b) Phyllotaxy: Spiral / opposite superposed / whorled... etc
 - c) Nature: Uniform / Heterophyllous
 - d) Petiole length
 - e) Lamina
 - i. Shape: Oblong, elliptic, oblanceolate, lanceolate, lanceo-linear, spatulate
 - ii. Base: Obtuse / acute.
 - iii. Apex: Acute, obtuse, mucronate.
 - iv. Margin: Wavy, serrated, dentate, undulated, entire.
 - v. Surface: Smooth / rough ; white / green.
 - vi. Texture: Thick (leathery / coriaceous) / thick (papery)
 - vii. Hairiness: Glebrescent / tomentose
 - viii. Venation:
 - ix. Average leaf size: Length (cm) / breadth (cm)
 - x. Thickness (μ)

III. REPRODUCTIVE STRUCTURES:

1. **Sexuality:** Unisexual : bisexual, monoecious
2. **Flowering nature:** Regular / occasional
3. **Frequency:** Heavy / shy
4. **Inflorescence:** Unisexual / androgynous / mixed
 - a) Male inflorescence: Pendulous catkins / erect spikes, solitary / clustered, simple / branched
 - b) Female inflorescence: Solitary / dichasial clusters along the rachis / basal clusters.
5. **Male flowers**
 - a) No. of stamens
 - b) Pistillodes: Absent / present
6. **Pollen grains**
 - a) Size
 - b) Shape
 - c) Fertility
 - d) Viability

7. Female flowers

- a) Staminodes: Absent / Present
- b) Styles: Number / length / connate / recurved.
- c) Stigma: Punctiform / capitate

8. Fruits

- a) Size: Length / diameter (cm)
- b) Shape: Ovoid-conical / ovoid-globose / ovoid-cylindrical / rounded
- c) Colour: Light / dark brown
- d) Cupule: Solitary / dischiasial clustered ; sessile / stalked ; cup / saucer / globular shaped ; thin/thick

9. Seed

- a) Single seed weight
- b) Germination (%)
- c) Viability (duration)

IV. ANATOMICAL FEATURES:**1. Stomata**

- a) Distribution: Abaxial / Adaxial
- b) Type:
- c) Position : Sunken / Surface
- d) Frequency / Unit area:
- e) Size (μ):
- f) Guard cell size (μ) :
- g) Stomatal chloroplast (no.) :

2. No. of palisade / sponge layer:**3. Ratio of palisade / sponge layer by thickness:****4. Thickness of cuticle:****5. Special features, if any:****V. CYTOLOGICAL DETAILS:****1. Somatic**

- a) Somatic chromosome number:
- b) Ploidy level:
- c) Karyotypic formula:
- d) Total chromatin length:
- e) No. of satellite chromosome:
- f) No. of large chromosome pairs:
- g) No. of medium size chromosome pairs:
- h) No. of short size chromosome pairs:

2. Meiotic

- a) Meiotic behaviour: Regular / irregular
- b) Chromosome configuration:
- c) Meiotic abnormalities:
- d) Distribution: Disjunctional / Non disjunctional
- Special feature if any

VI. PROPAGATION:**1. Sprouting in air layer / cuttings**

- a) Quality: Fast / medium / slow / nil
- b) Percentage on 30th days:

2. Rooting in air layers / cuttings

- a) Nature: Fast / medium / slow / nil

b) Percentage of 60th days

3. Sprouting in stumps / pollarded trunks during December

- a) Nature: Early / late
- b) Colour of sprouting: Violet / green
- c) Percentage of 90 days after pollarding

VII. GROWTH AND YIELD ATTRIBUTES:

A. Quantitative

Growth

1. Nature: Slow / medium / fast

2. Rate / 90 days (cm):

i. Height of the plant:

ii. No. of primary branches:

iii. Length of secondary branches:

iv. No. of secondary branches:

v. Length of secondary branches:

vi. Total shoot length (cm):

vii. No. of leaf / meter:

viii. Weight of 100 fresh leaves:

3. Lamina / petiole ratio:

I. By length:

II. By weight:

4. Leaf shoot ratio by weight:

5. Total leaf yield / plant:

6. Calculated yield / ha:

B. Qualitative:

1. Moisture %

i	Top (1-7)	Middle (8-15)	Base (below 15)
---	--------------	------------------	--------------------

ii Average

2. Moisture retention capacity

Average at 12th hour of harvest

3. Chemical contents

i. Non reducing sugars (%)

ii. Reducing sugars (%)

iii. Total sugars (%)

iv. Crude protein (%)

v. Mineral (%)

vi. Fiber (%)

4. Palatability:

Superior / desirable / inferior

5. Leaf cocoon ratio by feeding trial of :

1 ha.

VIII. RESPONSE TO DIFFERENT PHYSIOLOGICAL CONDITIONS:

1. Resistance to drought:

Resistant / Tolerant / susceptible

2. Resistance to salinity:

Resistant / tolerant / susceptible

3. Resistance to acidity:

Resistant / tolerant / susceptible

- | | |
|--|----------------------|
| 4. Response to repeated pruning during winter every year: | Good / medium / poor |
| 5. Response to pruning during April- July for second crop: | Good / medium / poor |

IX. RESISTANCE TO DISEASES AND PESTS

1. Diseases

- | | |
|--|-------------------------------------|
| a) Rust (<i>Cronartium quercum</i>): | Resistance / tolerant / susceptible |
| b) Powdery mildew (<i>Phyllactinia corylea</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| c) Sooty mould (<i>Chaetophoma quercifolia</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| d) Leaf blister (<i>Taphrina carulescence</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| e) Leaf curl (Viral): | Resistant / tolerant / susceptible |

2. Pests

- | | |
|--|------------------------------------|
| a) Resistance to aphids :
(<i>Lachnus tropicalis</i> , <i>cervaphicus quercus</i>
<i>tuberculatus indicus</i>) | Resistant / tolerant / susceptible |
| b) Resistance to stem borers (<i>Betocura lineolata</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| c) Resistance to shoot borer (<i>Auletophys densatus</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| d) Resistance to leaf roller (<i>Apoderus notatus</i>): | Resistant / tolerant / susceptible |
| e) Resistance to semi loopers (<i>Hyblacae</i>
<i>puera Cramer</i>) | Resistant / tolerant / susceptible |
| f) Resistance to hairy caterpillars (<i>Pheura raya</i> Moore): | Resistant / tolerant / susceptible |

On the basis of foliar lanceolate, elliptical, oblong, obovate, oblanceolate, mucronate, spathulate and lanceoliner varieties may be isolated in *Q. serrata* and obovate, obovate-oblong and oblanceolate varieties may be isolated in *Q. griffithii* (Tables I, II). All the varieties / morphotypes bear mixed foliage which may be due to their heterozygous nature. The maximum purity was found to vary from 90-100% in lanceolate, lanceo-linear, oblong and oblanceolate morphotypes while purity status of spathulate and elliptic-oblanceolate varieties / morphotypes ranged from 70-80%. On the basis of colour at the time of sprouting only two varieties i.e. violet and green have been earmarked. *Q. leucotrichophora* A. Camus and *Q. acutissima* Carr. have been considered as the valid name of *Q. serrata* Thunb. and *Q. incana* Roxb., respectively by some of the authors (Singh and Das, 1991; Mathur and Singh, 1980; Srivastav and Singh, 1997; Negi and Naithani, 1995; Bahadur, 1975). *Q. serrata* Thunb. should in fact be awnless in the margins of leaves and its involucre should be very short around the fruits but awnless specimens were not encountered yet some of the genotypes have been found to exhibit intermediate characters between both species. Hence, occurrence of true to type *Q. serrata* cannot be completely ruled out. Furthermore, some morphotypes are identical to *Q. semiserrata* Roxb. but they do not exactly represent the true to type *Q. semiserrata*. Besides, *Q. dealbata* and *Q. variabilis* reported from Korea, China and Japan may also be forming a complex in North-eastern region of Indian because of their allied nature and geography. *Q. dilatata* Wall ex D. C. has also been renamed as *Q. himalayana* Bahadur and *Q. floribunda* Lindle ex. A. Camus subsequently (Negi and Naithani 1995, Bahadur, 1971).

Physiogenetically, differential genotypic response to rooting was observed in air layers of seven (A-G) genotypes of *Q. serrata* by using IBA 500 ppm. dose uniformly. Maximum (100%) rooting was exhibited by G genotype, minimum (0%) rooting was exhibited by E genotypes and A, B, C, D, F genotypes exhibited 30, 46, 12, 26.66 and 9.52% rooting respectively (Srivastava *et al.*, 2000).

In Himachal Pradesh, 7 distinct morphotypes of *Q. semecarpifolia* (M1 – M7) were identified on the basis of thickness, size, colour of lower surface and spiny / non-spiny nature of leaves (Rajaram *et al.*, 1998). *Q. semecarpifolia* and *Q. incana* have been found in Arunachal Pradesh also which may invariably be different from those found in North-Western region of India. Inter specific hybridization in *Quercus* species is very frequent due to open (cross) pollination and hybrids of *Q. incana* × *Q. dilatata* have already been reported from British Arboretum, Manali and spontaneous hybrids of *Q. floribunda* × *Q. leucotrichophora* occur in Dalhousie hills of Himachal Pradesh (Parker, 1939). Likewise, there is every likelihood that natural hybrids occur between *Q. griffithii* and *Q. serrata* in North east India as intermediate plants are encountered. There is so much variability in some oaks that the validity of species concept in *Quercus* has been questioned (Trelease, 1924; Burger, 1975; Van Valen, 1976) since complications at the species level are introduced by frequent hybridization and edaphic and Clinal variation as (Kaul, 1985; Baciallari *et al.*, 1994). The proposed descriptor is based on 120 characters of 9 major groups pertaining to phytogeography, gross morphology, reproductive biology, anatomy, cytology, growth / yield attributes, quality parameters, responses to different cultivation practices and resistance to various pests and diseases as presented in Annex I. The extent of variability observed in each character is taken as a base for descriptor (Dandin and Joly, 1986) and *Terminalia* (section: Pentaptera) Descriptor (Srivastav *et al.*, 1997) have been used as a base for preparing the oak descriptor with certain modifications as applicable in case of oaks. Morphological characters such as leaf shape, size, texture, bark, flower and fruit characteristics have been taken into account in detail for maximum utilization of these characteristics in classification of oaks (*Quercus* and *Lithocarpus*) species. The important yield contributing / growth attributes were also considered for study. The major diseases and pests affecting oak species have also been included to assess the resistance to them.

The proposed descriptor is likely to serve as a ready reckoner for morphological and agronomical description of the genotype / morphotype / variety besides serving as a model for quick review of the feature of a genotype. The descriptor is also likely to help tree breeders as a source of information regarding existing genetic variability, growth requirements and special genes for future breeding programmes on *Quercus* and *Lithocarpus* species.

REFERENCES

- ANDERSON J. R., HERDT R. W. & SCARBIE G. M. (Eds.) (1988) Science and Food. The CGIAR and its partners. IRBD/ World Bank, Washington, U.S.A.
- BACILIARI R., LABA T. & KUMAR A. (1994) Interspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petraea* (matt) Leibl. and *Q. robur* L. *Heredity*, 73 130-141.
- BAHADUR K. N. (1971) *Quercus dilatata* is now *Quercus himalayana*. *Ind. For.*, 97(9), 523.
- BAHADUR K. N. (1975) A name change for *Quercus incana* Roxb. is inevitable. *Ind. For.*, 101(1), 99.
- BURGER W. C. (1975) The species concept in *Quercus* *Taxon*, 24, 45-50.
- CAMUS A. (1936-54) Les Chennes Monographic dugenere *Quercus* and Monographic du genere *Lithocarpus* *Encycl. Econ. Sylvic.* VI – VIII, Lechevalier, Paris.
- CREECH J. L. & REITZ L. P. (1971) Plant germplasm now and for tomorrow. *Adv. Agron.*, 23, 1-49.
- DANDIN S. B. & JOLLY M. S. (1986) Mulberry descriptor. *Sericologia*, 26(40), 465-463.
- KAUL R. B. (1985) Reproductive morphology of *Quercus* (Fagaceae). *Amer. J. Bot.*, 72 (120, 1962-1977).
- MATHUR N. K. & SINGH R. P. (1980) An annotated bibliography of Indian oaks, F.R.I., Dehradun.
- NEGI S. S. & NAITHANI H. B. (1995) Oaks of India, Nepal and Bhutan, M/S Inter. Book Distrib., Dehradun.
- PARKER R. N. (1939) Two natural hybrids *Ind. For.* 65, 585-586.

- PARODA R. S. & ARORA R. K (1992) Genetic resources, crop improvement and sustainable agriculture. In: Biodiversity: Implications for global food security. Eds. Swaminathan, M. S. & Jana, S. Macmillan Ind. Ltd. Pp: 59-79.
- RAJA RAM, KUMAR S., ROY G. C., SINHA A. K. & SINHA B.R.R.P. (1998) Effect of the different morphotypes of *Quercus semecarpifolia* on the rearing of *Antheraea proylei* J. Proc. 3rd Inter. Conf. On wild Silkmths Bhuvaneshwar, pp.
- SINGH K. C. & DAS (1991) Understanding the Oak *Quercus acutissima* Carr. in India. Ind. For, 117 (120, 1070-1072.
- SRIVASTAV P. K., SRIVASTAVA D. P. & THANGAVELU K.(1997) Terminalia (Section: Pentaptera) Descriptor, Sericologia 37(2): 289-299.
- SRIVASTAV P. K. & SINGH N. I. (1997) Genetic resources and conservation of biodiversity in *Quercus serrata* Thumb. Inten. Synp. On sustainable utilization of Biodiv. Dehradun, pp. 72.
- SRIVASTAV P. K., SINGH N IBOHAL & THANGAVELU K. (2002) Differential genotypic response of *Quercus serrata* Thumb. to air layerings. Curr. Tech. Semin., Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, pp 2.
- SRIVASTAV P. K., SINGH N. IBOHAL & THANGAVELU K. (2002) Genetic resources of *Quercus*: their maintenance, evaluation and utilization. Bull. Ind. Acad. Seri: (in press).
- SRIVASTAV P. K. & SINGH N. I. (2002) Management of genetic resources of oak tasar host plants in India. Workshops on germplasm management. CSGRC, Hosur.
- TRELEASE W. (1924) The American Oaks. Mem. Natl. Acad. Sci., 20, 1-255.
- VAN VALEN L. (1976) Ecological species, multispecies and oaks. Taxon, 25, 233-239.
- VAVILOV N. I (1926) Centres of origin of cultivated plants. Russia.

DESCRIPTEUR DU CHENE

P. K. SRIVASTAV, N. IBOHAL SINGH & B. R. R. P. SINHA*

Regional Tasar Research Station, Imphal – 795 002, Inde.

*La variabilité génétique chez le chêne, la plante hôte d'**Antheraea proylei** J. en Inde n'a pas pu être exploitée jusqu'à présent en raison de l'absence d'un descripteur. Nous proposons donc un descripteur du chêne basé sur les études réalisées à partir de 52 variétés des espèces **Quercus** et **Lithocarpus** dans le Manipur. Le descripteur comprend 120 caractères appartenant à neuf groupes principaux c'est à dire la phytogéographie, la morphologie brute, l'anatomie et la biologie reproductive, la cytologie, les attributs de croissance / de rendement, des paramètres de qualité, les réponses à différentes pratiques de culture et la résistance à des maladies et des parasites variés. Ce descripteur pourrait servir de grille pour des descriptions morphologique et agronomique des génotypes / variétés tout en servant de modèle pour un passage en revue rapide des caractéristiques des génotypes.*

INTRODUCTION

Approximativement 240 000 espèces de plantes existent sur terre dont seulement environ 5000 ont été étudiées attentivement (Anderson et coll., 1988) ; sur environ 15 000 espèces de plantes supérieures, seul un tiers représente des plantes utiles et riches qui comprennent aussi 1 500 plantes hôtes (Paroda et Arora, 1992) bien que, en l'état actuel des choses l'humanité dépende en gros de 25 à 30 plantes hôtes (Harlan, 1975).

Vavilov (1926) a été le premier à prendre conscience de la nécessité d'une base génétique large pour l'amélioration de n'importe quelle plante de culture et sa prise de conscience a décidé les naturalistes à accumuler autant d'information que possible sur la variabilité génétique existante chez les plantes et les animaux pour réaliser des programmes de lignage. Ainsi, il est devenu essentiel pour les programmes d'amélioration génétique de procéder à des explorations, au recueil, à la caractérisation et au catalogue complets du matériel génétique.

Les germoplasmes sont en effet un rassemblement de matériel végétal assemblé ou non assemblé utilisé pour l'amélioration des cultures ou la recherche associée (Creech et Reitz, 1971). Les germoplasmes sont les ressources naturelles les plus vulnérables de l'homme mais aussi la source de gènes et de génotypes pour modifier et protéger les cultures. Ils permettent aussi au sélectionneur de choisir un matériel correct dans des buts spécifiques. Ainsi, le germoplasme d'une culture pourrait être défini comme la somme totale du matériel héréditaire, c'est à dire tous les allèles de gènes variés, présents dans les lignées, les souches, les variétés, les cultivars d'une espèce cultivée et de ses parents sauvages. Le germoplasme d'une culture est donc la somme totale de la variabilité génétique disponible dans l'espèce. L'utilisation efficace du germoplasme dépend de l'exploration, de la caractérisation et de l'identification systématique des génotypes avec des caractères spécifiques.

Grâce à la diffusion rapide de la sériciculture et de l'élevage du tasar tropical dans différents états indiens et pays tropicaux, on a senti depuis longtemps qu'il fallait un descripteur du mûrier et de

* Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi.

Terminalia avec les caractères spécifiques et on a donc préparé des descripteurs du mûrier et de *Terminalia* (Dandin et Jolly, 1986 ; Srivastav et coll., 1997). La culture du tasar du chêne a aussi été transformée en une industrie au potentiel économique immense tout en protégeant l'environnement himalayen géologiquement fragile grâce à des espèces de chêne variées qui servent de plante hôte aux vers à soie tempérés du tasar. Ainsi, on a senti très fortement qu'il fallait des variétés / géotypes supérieurs du chêne de manière à améliorer l'écosystème de la production de soie tasar. En raison de l'absence d'un descripteur pour le chêne, la plante hôte principale d'*Antheraea proylei* J., cette variabilité génétique n'a pas pu être exploitée jusqu'à présent.

Aussi, nous avons essayé de mettre au point un descripteur du chêne pour les genres *Quercus* et *Lithocarpus* qui pourrait être acceptable dans le cadre du Programme Abrégé International et pour le Bureau International de Ressources Génétiques en Plantes (IBPGR) appelé maintenant Institut International des Ressources Génétiques de Plantes (IPGRI) comme un modèle pour décrire les différentes données.

MATERIELS ET METHODES

Le chêne appartient à la famille des Fagaceae qui comprend quatre genres c'est à dire *Quercus*, *Lithocarpus*, *Castanea* et *Castanopsis*. *Quercus* Linn, le genre le plus important de la famille comprend plus de 400 espèces (Trelease, 1924, Camus, 1936 et Seq.). Parmi les deux sous-genres de *Quercus*, le sous-genre *Cyclobalanopsis* a peu d'espèces mais une plus grande diversité de morphologie reproductive que le sous-genre *Quercus*. Le centre moderne de la diversité morphologique dans la famille et chez *Quercus* est le sud-est de l'Asie et les îles Pacifiques adjacentes qui pourraient être l'habitat ancestral de la famille (Kaul, 1985). En Inde, on a rapporté plus de 35 espèces de chênes dont 15 espèces appartiennent au genre *Quercus* distribuées le long de la région sous-himalayenne entre 600 et 2700 m au-dessus de la mer, du Cachemire à l'Arunachal Pradesh, en passant par l'Assam, le Meghalaya, le Mizoram, le Nagaland et le Manipur. Dans le nord-est de l'Inde, les espèces de *Q. serrata* (syn. *Q. acutissima*), de *Q. semecarpifolia* et de *Q. griffithii* s'avèrent les plus adaptées à l'élevage d'*Antheraea proylei* J. et de *A. roylei* tandis que *Lithocarpus dealbata* (syn. *Q. dealbata*) sert de plante hôte primaire à *A. proylei*. De plus, on a introduit *Q. serrata* du Manipur par les graines.

Le chêne est présent de manière grégaire et régulièrement en altitude dans les régions du nord-est de l'Himalaya (Negi et Naithani, 1995). Les populations de chêne provenant d'endroits divers n'ont pas évolué de manière uniforme parce que la grande zone qu'elles occupent est très diversifiée climatiquement, édaphiquement et aussi géographiquement. La présence d'une immense variabilité inter et intra spécifique en raison des conditions écologiques variées et de la pollinisation ouverte par anémophilie (Kaul, 1985) a rendu le genre *Quercus* génétiquement très riche.

On a procédé aux explorations dans sept régions sur neuf du Manipur c'est à dire dans les régions d'Imphal (est), Imphal (ouest), Thoubal, Bishnupur, Ukhrul, Senapati, Churachandpur et de Chandel pour *Q. serrata*, *Q. griffithii* et *Lithocarpus dealbata* (Srivastav et Singh, 1997, 2002, Srivastav et coll., 2002). De plus, on a pris en compte les explorations préliminaires réalisées dans l'Himachal Pradesh pour *Q. semecarpifolia* (Rajaram et coll., 1998). On a sélectionné un total de 34 arbres pour *Q. serrata*, de 8 arbres pour *Q. griffithii*, de trois arbres pour *Lithocarpus dealbata* dans le Manipur et 7 morphotypes pour *Q. semecarpifolia* dans l'Himachal Pradesh et on a enregistré les valeurs moyennes pour les observations morphologiques.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les variations ont lieu à l'intérieur de l'espèce en ce qui concerne la morphologie de la feuille, des graines ainsi que la pousse des feuilles, le comportement de maturité et les réponses au racinement par marcottage. Parfois ces variations sont si considérables qu'elles pourraient justifier la division du

genre *Quercus* en plusieurs variétés / espèces. L'ensemble *Quercus serrata* présente des variations continues plutôt que discontinues en ce qui concerne la forme, la texture, le bord du sommet, la base, la taille, le nombre de nervures latérales et le poids d'une feuille ainsi que la taille, le poids, la forme, la texture et les involucre des fruits (Tableau I).

Chez *Q. serrata* on peut isoler les variétés sur la base du feuillage lancéolé elliptique, oblongue, obovale, oblancéolé, mucroné, spatulé et lancéolinaire et chez *Q. griffithii* on peut isoler les variétés obovales, obovales-oblongues et oblancéolés (Tableaux I, II). Toutes les variétés / morphotypes ont un feuillage mélangé qui pourrait être dû à leur nature hétérozygote. On trouve que la pureté maximum varie de 90 à 100 % chez les morphotypes lancéolés, lanceo-linéaires, oblongues et oblancéolés tandis que l'état de pureté des variétés spatulées et elliptiques –oblancéolées est compris entre 70 et 80 %. Sur la base de la couleur au moment de la germination, seules deux variétés une violette et une verte sont caractéristiques. *Q. leucotrichophora*, *A. camus* et *Q. acutissima* Carr. sont considérés respectivement par certains auteurs comme les noms valides de *Q. serrata* Thunb. et de *Q. incana* Roxb. (Singh et Das, 1991 ; Mathur et Singh, 1980 ; Srivastav et Singh, 1997 ; Negi et Naithani, 1995 ; Bahadur, 1975). *Q. serrata* Thunb en fait ne devrait pas avoir de barbe sur les bords des feuilles et son involucre devrait être court autour des fruits mais on n'a pas rencontré de spécimens sans barbe ; cependant on a trouvé que certains des génotypes présentent des caractères intermédiaires aux deux espèces. On ne peut donc pas complètement écarter l'existence d'un *Q. serrata* conforme au type. De plus, certains morphotypes sont identiques à *Q. semiserrata* Roxb. mais ils ne représentent pas exactement le type conforme à *Q. semiserrata*. Par ailleurs, *Q. dealbata* et *Q. variabilis* rapportés de Corée, de Chine et du Japon pourraient aussi former un ensemble dans la région du nord-est de l'Inde en raison de leur nature et de leur géographie apparentée. On a aussi renommé *Q. dilatata* Wall ex D. C. *Q. himalayan* Bahadur et par la suite *Q. floribunda* Lindle sous le nom de *A. camus* (Negi et Naithani 1995, Bahadur, 1971).

Sur le plan physiogénétique, on observe une réponse génotypique différentielle de racinement pour les couches aériennes chez sept (A-G) génotypes de *Q. serrata* en utilisant uniformément une dose de 500 ppm. d'IBA. Le génotype G présente le racinement maximum (100 %) et les génotypes A, B, C, D, F présentent respectivement 30, 46, 12, 26,66 et 9,52 % de racinement (Srivastava et coll., 2000).

Dans l'Himachal Pradesh, on a identifié 7 morphotypes distincts de *Q. semecarpifolia* (M1–M7) sur la base de leur épaisseur, de leur taille, de la couleur de la surface inférieure et par rapport à la nature épineuse / non-épineuse des feuilles (Rajaram et coll., 1998). On a aussi trouvé *Q. semecarpifolia* et *Q. incana* dans l'Arunachal Pradesh qui pourraient être invariablement différents de ceux que l'on trouve dans la région du nord-est de l'Inde. L'hybridation inter-spécifique chez les espèces de *Quercus* est très fréquente en raison de la pollinisation (croisée) ouverte et on a déjà rapporté des hybrides de *Q. incana* × *Q. dilatata* dans le British Arboretum, Manali et des hybrides spontanés de *Q. floribunda* × *Q. leucotrichophora* sont présents dans les collines de Dalhousie dans l'Himachal Pradesh (Parker, 1939). De même, il est très probable qu'il y ait des hybrides naturels entre *Q. griffithii* et *Q. serrata* dans le nord-est de l'Inde car on rencontre des plantes intermédiaires. Il y a une telle variabilité chez le chêne qu'on s'est interrogé sur la validité du concept d'espèce chez *Quercus* (Trelease, 1924 ; Burger, 1975 ; Van Valen, 1976) puisque l'hybridation fréquente et la variation édaphique et climatique introduisent des complications au niveau de l'espèce (Kaul, 1985 ; Bacialliari et coll., 1994). Le descripteur proposé se base sur 120 caractères avec 9 groupes principaux appartenant à la phytogéographie, à la morphologie brute, à la biologie reproductive, à l'anatomie, à la cytologie, aux attributs de croissance / rendement, aux paramètres de qualité, aux réponses de différentes pratiques de culture et à la résistance à des insectes et des maladies variées présentées dans l'Annexe 1. Le degré de variabilité observé pour chaque caractère est pris comme base pour le descripteur (Dandin et Joly, 1986) et le descripteur *Terminalia* (section : Pentaptera) (Srivastav et coll., 1997) a été utilisé comme une base pour préparer le descripteur du chêne avec certaines modifications. On a pris en compte les caractères morphologiques tels que la forme, la taille, la texture

de la feuille, de l'écorce, de la fleur et du fruit en détail pour une utilisation maximum de ces caractéristiques dans la classification des espèces de chênes (*Quercus* et *Lithocarpus*). Nous avons aussi pris en considération les attributs importants contribuant au rendement et à la croissance. Nous avons aussi inclus les principaux parasites et maladies affectant les espèces de chênes en évaluant leur résistance.

Il est probable que le descripteur proposé serve de grille pour la description morphologique et agronomique du génotype / du morphotype / de la variété tout en servant de modèle pour une étude rapide du caractère d'un génotype. Il est aussi probable que le descripteur aide les sélectionneurs dans les futurs programmes de lignage sur les espèces *Quercus* et *Lithocarpus* en tant que source d'information concernant la variabilité génétique existante, les besoins de croissance et les gènes spéciaux.

DESCRIPTEUR DU CHENE (*QUERCUS* / *LITHOCARPUS*) (ANNEXE 1)

I. INFORMATION PHYTOGEOGRAPHIQUE

1. Noms botaniques :
2. Nom courant / variétal :
3. Origine : Indigène / Exotique (pays / état / province)
4. Sauvage ou cultivé :
5. Si cultivé :
 - a) Mode d'origine : Introduction / sélection / hybride / polyploïde / mutant etc.
 - b) Zones de culture : Subtropicale / subtempérée (Nord-est / Nord-ouest)
6. Altitude de distribution

II. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

1. Habitude : Arbre / Buisson ; Feuilles caduques / Persistantes
2. Nature des branches : Droites / Etendues / Tombantes
3. Couleur de l'écorce du tronc : Gris clair / gris foncé / noir
4. Ecorce
 - a) Nature : Lisse / rude / craquée / fissurée
 - b) Epaisseur
5. Feuille
 - a) Distance internodale : Feuille du sommet (1-7), du milieu (8-15), de la base (en-dessous de la 15^{ème} feuille d'une branche)
 - b) Phyllotaxie : En spirale / superposée à l'opposé / enroulée
 - c) Nature : Uniforme / Hétérophylle
 - d) Longueur du pétiole
 - e) Limbe
 - i. Forme : Oblongue, elliptique, oblancéolée, lencéolée, lanceolinéaire, spatulée
 - ii. Base : Obtuse / pointue
 - iii. Sommet : Pointu / obtus / mucroné
 - iv. Bord : Ondulé, denté, dentelé, onduleux, entier
 - v. Surface : Lisse / rugueuse ; blanc / vert
 - vi. Texture : Epaisse (cuirassée / coriace) / épaisse (parcheminée)
 - vii. Pilosité : Glabre / tomentose
 - viii. Nervation :
 - ix. Taille moyenne de la feuille : Longueur (cm) / largeur (cm)
 - x. Epaisseur (μ) :

III. STRUCTURES REPRODUCTIVES

1. **Sexualité :** Unisexué / bisexuel, monoecique
2. **Nature de la floraison :** Régulière / occasionnelle
3. **Fréquence :** Importante / Rare
4. **Inflorescence :** Unisexuée / androgène / mélangée
 - a) Inflorescence mâle : Châtons pendants / pics droits, solitaires / rassemblées, simples / ramifiées
 - b) Inflorescence femelle : Solitaires / groupes dichasiaux le long du rachis / groupes de base
5. **Fleurs mâles :**
 - a) Nbre d'étamines
 - b) Pistillodes : Absents / présents
6. **Grains de pollen :**
 - a) Taille
 - b) Forme
 - c) Fertilité
 - d) Viabilité
7. **Fleurs femelles**
 - a) Staminodes : Absents / Présents
 - b) Styles : Nombre / longueur / connés / récurrents
 - c) Stigmates : Ponctulés / en capitule
8. **Fruits**
 - a) Taille : Longueur / diamètre (cm)
 - b) Forme : Ovoïde-conique / ovoïde-globose / ovoïde-cylindrique / arrondie
 - c) Couleur : Marron clair / foncé
 - d) Cupule : Solitaire / groupé en dichasium ; sessile / pétiolé ; bombé / plat / en forme de globe ; fin / épais
9. **Graines**
 - a) Poids de la graine
 - b) Germination (%)
 - c) Viabilité (durée)

IV. CARACTERES ANATOMIQUES

1. **Stomate**
 - a) Distribution : Désaxé / ventral
 - b) Type :
 - c) Position : Enfoncé / A la surface
 - d) Fréquence / unité de surface
 - e) Taille (μ)
 - f) Taille de la cellule de garde (μ)
 - g) Chloroplaste stomatal (nbre) :
2. **Nbre de couches palissadiques / spongieuses :**
3. **Ratio de couches palissadiques / spongieuses d'après l'épaisseur :**
4. **Épaisseur de la cuticule :**
5. **Caractéristiques spéciales s'il y en a :**

V. CARACTERISTIQUES CYTOLOGIQUES :

1. **Somatiques**
 - a) Nombre de chromosomes somatiques :
 - b) Niveau de ploïdie :
 - c) Formule karyotypique :
 - d) Longueur totale de chromatine :
 - e) Nbre de chromosomes satellites :
 - f) Nbre de grandes paires de chromosomes :
 - g) Nbre de paires de chromosomes de taille moyenne
 - h) Nbre de paires de chromosomes de petite taille

2. Méiotiques :

- a) Comportement méiotique : Régulier / irrégulier
- b) Configuration des chromosomes :
- c) Anormalités méiotiques :
- d) Distribution : Disjonctionnelle / Non disjonctionnelle
Caractéristiques spéciales s'il y en a

VI. MULTIPLICATION

1. Bourgeonnement des couches aériennes / boutures

- a) Qualité : Rapide / moyen / lent / nul
- b) Pourcentage le 30^{ème} jour

2. Racinement des couches aériennes / boutures

- a) Nature : Rapide / moyen / lent / nul
- b) Pourcentage le 60^{ème} jour

3. Bourgeonnement des souches / des troncs écimés en décembre

- a) Nature : Début / fin
- b) Couleur du bourgeonnement : Violet / vert
- c) Pourcentage le 90^{ème} jour après l'écimage

VII. ATTRIBUTS DE CROISSANCE ET DE RENDEMENT

A. Quantitatif

Croissance

- 1. Nature : Lent / moyen / rapide

2. Taux / 90 jours (cm) :

- i. Hauteur du plant :
- ii. Nbre de branches primaires :
- iii. Longueur des branches secondaires :
- iv. Nbre de branches secondaires :
- v. Longueur des branches secondaires :
- vi. Longueur des pousses totales (cm) :
- vii. Nbre de feuilles / mètre :
- viii. Poids de 100 feuilles fraîches

3. Taux de limbes / de pétioles

- I. En longueur :
- II. En poids :

4. Ratio de pousses au poids :

5. Rendement total en feuilles / plant :

6. Rendement calculé / ha :

B. Qualitatif

1. % d'humidité

- i. Haut Milieu Base
(1-7) (8-15) (en-dessous de 15)
- ii. Moyenne

2. Capacité de rétention de l'humidité

Moyenne à la 12^{ème} heure de récolte

3. Contenu chimique

- i. Sucres non réducteurs (%)
- ii. Sucres réducteurs (%)
- iii. Sucres totaux (%)
- iv. Protéines brutes (%)
- v. Minéraux (%)
- vi. Fibres (%)

- 4. Saveur Supérieure / désirable / inférieure

5. **Ratio feuilles-cocons à partir d'un essai de nourrissage sur 1 ha**

VIII. REPONSE A DIFFERENTES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES

- | | |
|---|---------------------------------|
| 1. Résistance à la sécheresse : | Résistant / tolérant / sensible |
| 2. Résistance à la salinité : | Résistant / tolérant / sensible |
| 3. Résistance à l'acidité : | Résistant / tolérant / sensible |
| 4. Réponse à une taille répétée pendant l'hiver chaque année : | Bonne / moyenne / mauvaise |
| 5. Réponse à la taille en avril – juillet pour la deuxième récolte | Bonne / moyenne / mauvaise |

IX. RESISTANCE AUX MALADIES ET AUX PARASITES

1. **Maladies**

- | | |
|---|---------------------------------|
| a) Rouille (<i>Cronartium quercum</i>) | Résistant / tolérant / sensible |
| b) Mildiou poudreux (<i>Phyllactinia corylea</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| c) Fumagine (<i>Chaetophoma quercifolia</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| d) Chancre de la feuille (<i>Taphrina carulescence</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| e) Enroulement des feuilles (Virale) : | Résistant / tolérant / sensible |

2. **Parasites**

- | | |
|--|---------------------------------|
| a) Résistance aux pucerons :
(<i>Lachnus tropicalis</i> , <i>Cervaphicus quercus</i> , <i>Tuberculatis indicus</i>) | Résistant / tolérant / sensible |
| b) Résistance au perforateur de la tige (<i>Betocura lineolata</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| c) Résistance au perforateur de la pousse (<i>Auletobius densatus</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| d) Résistance à l'enrouleur de la feuille : | Résistant / tolérant / sensible |
| e) Résistance aux semi arpeuteuses (<i>Hyblacae puera Cramer</i>) : | Résistant / tolérant / sensible |
| f) Résistance aux chenilles poilues (<i>Pheura raya</i> Moore) : | Résistant / tolérant / sensible |

ANTIFEEDANT AND INSECTICIDAL ROLE OF AZADIRACHTIN AGAINST ASH WEEVIL, *MYLLOCERUS VIRIDANUS* FAB. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), A PEST OF PRIMARY TASAR FOOD PLANTS

S. P. SHARMA, RAM KISHORE, RAKESH GUPTA*, B. C. PRASAD & B.R.R.P. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi-835 303 (INDIA)

Mylocerus viridanus Fab. an ash weevil is a well known plant pest found to damage tasar food plants; *Terminalia arjuna* Bedd. and *T. tomentosa*, and thus affects the foliage production. Azadirachtin, a neem derivative has antifeedant and insecticidal property. In this study Azadirachtin was evaluated for its insecticidal and feeding inhibition effects against adults of *M. viridanus*. Adults feeding on Azadirachtin treated *T. arjuna* leaves entailed mortality and feeding inhibition in a dose dependant manner. Since the safe period for utilization of treated foliage has been worked out to be 5 days for tasar silkworm feeding, the observation on *M. viridanus* mortality and collection of litter were restricted to 120 hours. The outcome of the study is quantification of mortality and faecal discharge on different days of treatment, which can be used for devising control measures against the pest.

Keywords: *Mylocerus viridanus*, *Antheraea mylitta*, *Terminalia arjuna*, *T. tomentosa*, Azadirachtin.

INTRODUCTION

The indiscriminate and extensive use of insecticides for the control of insect pest leads to "ecological backlash" in the form of environmental pollution as well as development of resistance to insecticides and resurgence (Sundararaj *et al.*, 1995). Further, insecticides cannot be used during rearing, as the silkworm cannot tolerate even the sub-lethal doses of toxic compounds (Thangavelu and Singh, 1991). This has led to investigations on the possibility of utilizing plant-derived chemicals. It has been well documented that neem, an extremely potent one among all the plants, has pronounced and exemplary bio-pesticide properties (Sundararaj *et al.*, 1995). The potential of neem seed oil and seed extracts against several crop pests has been demonstrated (Jotwani and Srivastava, 1984).

M. viridanus is a serious pest of tasar food plants. Bionomics of this pest has been reported (Mondal *et al.*, 1989). The relative potency of some insecticides to soil inhabiting insects has been reported (Bindra and Singh, 1991; Singh *et al.*, 1992). *M. viridanus* has been found to affect plant growth: the adult damage the foliage and the grubs damage the root system (Thangavelu, 1984).

In the present study an attempt has been made to investigate the efficacy of Azadirachtin against survival and feeding behavior of *M. viridanus*.

* Basic Seed Multiplication and Training Centre, Pali, District- Bilaspur (Chattishgarh)

MATERIALS AND METHODS

The adults of *M. viridanus* were collected from *T. arjuna* and *T. tomentosa* bushes and brought to the laboratory. These insects were kept under starvation for 24 hours. Ten different concentrations of Azadirachtin ranging from 1.5 to 15.0 ppm were freshly prepared by dissolving required quantities (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 and 5.0 ml) of Amrutguard solution (AI-0.03% Azadirachtin) separately and making up each 100 ml using distilled water and placing them into separate conical flasks. Healthy leaves of *T. arjuna* were collected from the field and dipped for 5 minutes in different concentrations of Azadirachtin separately, left to dry in air for half an hour and then placed in plastic boxes (10 cm diameter and 20 cm height). Twenty adults of *M. viridanus* in each replication were released into it. The experiment was conducted in 3 replications at $26 \pm 2^\circ\text{C}$ temperature and 77-95% relative humidity. The adults were allowed to feed on the treated leaves for 24 hours. The left out leaf parts thereof were removed. The adults were allowed to remain in their boxes without leaves for about 4 hours so that they could void all their faeces. The experiment was continued for one more day with treated leaves and on the subsequent days the adults were fed with untreated leaves till the termination of experiment (Joseph, 2000). In control the adults were fed with water treated leaves for first two days and then on untreated leaves. Mortality after every 24 hours was recorded in different treatments. The criterion for mortality observation was based on response after podding with a blunt probe. The litter excreted from the adults in different treatments after 120 hours were collected, dried in an oven at 70°C for 8 hours and thereafter the dry weight recorded. The data so obtained were analysed statistically (Kempthorne, 1952; Fisher and Yates, 1963). Duncan Multiple Range Test and regression analysis have been carried out to highlight the significance of differences and dose dependent mortality in different treatments.

RESULTS AND DISCUSSION

Data presented in Table I revealed that all the treatments were statistically significant over control and the adult mortality was found to be dose-dependant. Maximum (86.80%) mortality was registered for the 15.0 ppm dose at 120 hours as compared to control (4.45%), whereas the weight of litter was maximum (0.847 g / treatment) for the control as compared to the 15.0 ppm dose where only 0.140 g litter / treatment was collected, which clearly indicate the antifeedant property of Azadirachtin against *M. viridanus*. Duncan Multiple Range Test has been carried out and it was found that effect of 6.0, 7.5, 9.0, 10.5 and 12.0 ppm doses have positive and significance role in suppressing the pest at 120 hours. In continuation to that regression analysis was also carried out between doses and mortality after 120 hours and it was found that 91% variation is explained by different doses ($R^2 = 0.918$). Azadirachtin is a systemic insecticide and act in two ways, firstly as a repellent and feeding inhibitor (antifeedant), secondly it upsets the insect hormonal balance so that insects are permanently incapacitated (Biswas *et al.*, 1995). The neem extracts have received interest because these are easily biodegradable, easily available and because it is harder for the insects to develop resistance to inherent combination of chemicals derived from plants than to the single synthetic compound (Sidhu, 1995). Biswas *et al.* (1995) reported that Azadirachtin has 20 ingredients, and for this reason it is difficult for any insect to develop resistance to all of them.

Aqueous solution of Azadirachtin (15 ppm) foliar spray was proved to be potent against ash weevil. Eco-friendly control of pest has a direct bearing on the natural control of various pests and conservation of forest wealth. Furthermore, a bioassay was conducted earlier in the forest ecosystem and it was found that silkworm rearing could be successfully conducted after 5 days of foliar spray of 15 ppm Azadirachtin on the tasar food plants without having adverse effect on the important parameters of silkworm rearing and grainage such as effective rate of rearing percentage, larval weight, shell weight, cocoon weight, silk ratio percentage, coupling percentage, fecundity and hatching percentage (Sharma *et al.*, 2002 a).

Table 1. Efficacy of Azadirachtin against *Mylocerus viridanus* Fab.Tableau 1. Efficacité de l'azadiractine contre *Mylocerus viridanus* Fab.

Treatment <i>Traitement</i>	Conc. (ppm)	Cumulative mortality percentage after <i>Pourcentage de mortalité cumulatif après</i>					Wt. of litter (g) <i>Poids de la litière (g)</i>
		24h	48h	72h	96h	120h	
T1	1.5	1.11 ^a	4.45 ^{ab}	11.12 ^a	14.08	23.34	0.57
T2	3.0	1.11 ^a	8.89 ^{bc}	15.57 ^a	24.47	31.14	0.46
T3	4.5	4.45 ^{ab}	14.45 ^c	24.45	33.35	40.02	0.37
T4	6.0	7.78 ^{abc}	23.34	38.93 ^b	49.12 ^a	61.20 ^a	0.32
T5	7.5	11.50 ^{bc}	33.39 ^d	44.47 ^{bc}	55.57 ^{ab}	63.49 ^{ab}	0.31
T6	9.0	12.23 ^{bc}	32.28 ^d	51.22 ^{cd}	61.16 ^{bc}	66.71 ^{abc}	0.30
T7	10.5	13.34 ^c	32.23 ^d	53.42 ^{de}	64.46 ^c	68.96 ^{abc}	0.25
T8	12.0	21.13	36.68 ^d	55.57 ^{de}	67.79 ^{cd}	71.13 ^c	0.22
T9	13.5	34.48	51.28 ^e	64.46 ^{ef}	73.39 ^{de}	79.07	0.19
T10	15.0	43.35	57.82 ^e	77.80 ^f	77.80 ^c	86.80	0.14
Control <i>Témoin</i>	Water <i>Eau</i>	0.00 ^a	0.00 ^a	2.22	3.33	4.45	0.85
LSD at 5%		7.54	7.86	8.22	8.28	7.10	0.07

Alphabets in the superscript indicates the significance of differences among different treatments after Duncan Multiple Range Test.

Les lettres en exposant indiquent les différences significatives parmi les différents traitements après le Test de Duncan.

The safe period of Azadirachtin for tasar silkworm indicates that plant-derived product is rapidly degraded in the field and after that no residual toxicity effects were noticed. Safe period also indicates that product has a limit and consecutive application is required to control the pest (Sharma *et al.*, 2002 b, c, d).

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Shri S. Rai, Assistant Director (Stat.) for statistical analysis of data. The authors are also thankful to Shri B. M. K. Singh Deputy Director, Extension and Transfer Technology Section, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi for improving the manuscript.

REFERENCES

- BINDRA O.S. & SINGH J. (1991) Biological observation on the white grub, *Lachnosterna Holotrichia consanguinea* Blanch (Coleoptera: Scarabaeidae) and the relative efficacy of different insecticides against the adults. Indian J. Entomol., 33(2), 225-227.

- BISWAS S., SINGH P. & CHANDRA S. (1995) Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) – A versatile multipurpose tree. Indian Forester, 121(11), 1057-1062.
- FISHER R.A. & YATES F. (1963) Statistical table for Biological, Agricultural and Medical Research, Longman, England, p. 166.
- JOSEPH T.N. (2000) Antifeedant and growth inhibitory effects of neem seed kernel extract on *Ailanthus defoliator*, *Eligma narcissus indica* Roth (Lepidoptera: Noctuidae). Entomon, 25(1), 67-72.
- JOTWANI M.G. & SRIVASTAVA K.P. (1984) A reviews of neem research in Indian in relation to insects. Proceedings of 2nd International Neem Conference Rauischholzhausen, 1983, pp. 43-56.
- KEMPTHORNE O. (1952) The design and analysis of experiments. John Willey Son inc. London, p. 63.
- MONDAL K.C., SINGH R.N., BENGRA S.R., KUMAR N., CHOUDHARY C. C. & Sinha S. S. (1989) Seasonal phenology, biology and control measures of May-June beetle, *Anomala blanchardi* Blanch., a pest of primary tasar food plants. National Seminar on Experimental Zoology, M. U. Bodh Gaya, pp.15.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE & THANGAVELU K. (2002 a) Eco-friendly techniques to control foliage damaging insect pests of primary tasar food plants. Advances in Indian Sericulture Research.,143-146.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE, THANGAVELU K. & RAI S. (2002 b) Evaluation of Azadirachtin on mortality and feeding inhibition efficacy on *Anomala blanchardi* Blanch (Coleoptera: Scarabaeidae), a major pest of primary tasar food plants. Indian forester, 128 (6), 681-685.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE, SINHADEO S.N., ROY G.C. & SINHA B.R.R.P. (2002 c) Role of Integrated Pest Management in cocoon yield improvement. Proceeding of XIXth Congress of the International Sericulture Commission, Bangkok, 291-295.
- SHARMA S.P., RAMKISHORE & THANGAVELU K. (2002 d) Evaluation of Azadirachtin against *Notolophus antiqua* Linn. (Lepidoptera: Lymantriidae), a pest of primary tasar food plants. Sericologia, 42(2), 265-269
- SIDHU D.S. (1995) Neem in Agro-forestry as a source of plant derived chemicals for pest management. Indian forester, 121(11), 1012-1021.
- SINGH R.N., MONDAL K.C., KUMAR N. & SINHA S.S. (1992) Laboratory evaluation of insecticides against the white grub, *Anomala blanchardi* Blanch. a pest of tasar food plants. Indian J. Seric., 31(1), 65-66.
- SUNDARARAJ R., MURUGESAN S. & MISHRA R.N. (1995) Efficacy of neem seed oil against the babul white fly, *Acaudaleyrodes rachipora* (Singh) (Homoptera: Aleyrodidae). Indian Forester, 121(11), 1077-1079.
- THANGAVELU K. (1984) Studies on Ash weevil involving population dynamics and management practices in cotton. Cotton. Devt. 14 (2), 31-33.
- THANGAVELU K. & SINGH R.N. (1991) Integrated pest management in tasar culture. Ann. Entomol., 9(2), 59-65.

ROLE ANTIAPPETENT ET INSECTICIDE DE L'AZADIRACTINE CONTRE LE CHARENCON DE LA CENDRE, *MYLLOCERUS VIRIDANUS* FAB. (COLEOPTERA : CURCULIONIDAE), UN PARASITE DES PLANTES HOTES PRINCIPALES DU TASAR

S. P. SHARMA, RAM KISHORE, RAKESH GUPTA*, B. C. PRASAD & B. R. R. P SINHA

Central Tassar Research and Training Institute, Ranchi – 835 303 (Inde).

Mylocherus viridanus Fab. le charençon de la cendre est un parasite commun des plantes qui endommagent les plantes hôtes du tassar : *Terminalia arjuna* Bedd. et *T. tomentosa* et affecte la production de feuillage. L'azadiractine, un dérivé du margousier présente une propriété antiappétente et insecticide. Dans cette étude on a évalué l'azadiractine pour ses effets insecticide et d'inhibition de l'alimentation chez les adultes de *M. viridanus*. Les adultes qui se nourrissent sur des feuilles de *T. arjuna* traitées à l'azadiractine sont victimes d'une mortalité et d'une inhibition de l'alimentation qui dépend des doses. Comme on a calculé que l'on peut utiliser du feuillage traité sans risque pendant 5 jours pour l'alimentation du ver à soie tassar, les observations sur la mortalité de *M. viridanus* et les collectes de la litière sont limitées à 120 heures. Grâce à cette étude on a quantifié la mortalité et les matières fécales pendant différents jours du traitement et on peut utiliser ces observations pour mettre au point des mesures de lutte contre ce parasite.

INTRODUCTION

L'utilisation sans discernement et abusive des insecticides pour lutter contre les insectes a des retombées sur le plan écologique parce qu'elle entraîne une pollution environnementale et le développement de la résistance aux insecticides ainsi qu'une résurgence (Sundararaj et coll., 1995). De plus, on ne peut pas utiliser les insecticides pendant l'élevage parce que le ver à soie ne peut pas tolérer les doses de composants toxiques même non mortelles (Thangavelu et Singh, 1991). Cela a entraîné des études sur la possibilité d'utiliser des produits chimiques dérivés des plantes. Il y a beaucoup de documentation sur le margousier, qui est très puissant et qui a des propriétés bio-pesticides affirmées et exemplaires (Sundarraj et coll., 1995). Le potentiel de l'huile de margousier et des extraits de graine a été prouvé contre plusieurs parasites des cultures (Jotwani et Srivastava, 1984).

M. viridianus est un parasite sévère des plantes hôtes du tassar. Des rapports ont été publiés sur la bionomie de ce parasite (Mondal et coll., 1989). Des études ont aussi été faites sur la puissance relative de certains insecticides contre des insectes qui habitent dans le sol (Bindra et Singh, 1991 ; Singh et coll., 1992). Il s'avère que *M. viridanus* a un effet sur la croissance des plantes : les adultes endommagent le feuillage et les larves endommagent le système racinaire (Thangavelu, 1984).

Dans cette étude, nous avons essayé d'étudier l'efficacité de l'azadiractine par rapport à la survie et au comportement alimentaire de *M. viridanus*.

* Basic Seed Multiplication and Training Centre, Pali, District - Bilaspur (Chattishgarh)

MATERIELS ET METHODES

On recueille les adultes de *M. viridanus* dans des buissons de *T. arjuna* et de *T. tomentosa* et on les transfère au laboratoire. On fait jeûner ces insectes pendant 24 heures. On prépare dix concentrations différentes d'azadiractine comprises entre 1,5 et 15 ppm en dissolvant les quantités requises (0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4 ; 4,5 et 5 ml) de solution Amrutguard (AI – azadiractine à 0,03 %) séparément en ajustant à 100 ml avec de l'eau distillée et en les plaçant séparément dans des flasques coniques. On recueille des feuilles saines de *T. arjuna* sur le terrain et on les trempe pendant 5 minutes séparément dans différentes concentrations d'azadiractine, on les laisse sécher à l'air pendant une demi heure et on les place dans des boîtes en plastique (10 cm de diamètre et 20 cm de hauteur). On introduit vingt adultes de *M. viridanus* dans chaque répétition. On procède à l'expérience avec 3 répétitions à une température de $26 \pm 2^\circ \text{C}$ et une humidité relative de 77 à 95 %. On laisse les adultes se nourrir sur des feuilles traitées pendant 24 heures. On enlève les parties foliaires qui restent. On laisse les adultes dans leurs boîtes sans feuilles pendant environ 4 heures pour qu'ils vident toutes leur matières fécales. On continue l'expérience pendant un jour de plus avec des feuilles traitées et les jours suivants on nourrit les adultes avec des feuilles non traitées jusqu'à la fin de l'expérience (Joseph, 2000). Chez le témoin, on nourrit les adultes avec des feuilles traitées avec de l'eau pendant les deux premiers jours et ensuite avec des feuilles non traitées. On enregistre la mortalité toutes les 24 heures avec les différents traitements. Les observations sur la mortalité se basent sur la réponse après les avoir rassemblés avec un stylet épointé. On recueille les excréments des adultes avec les différents traitements après 120 heures, on les sèche dans un four à 70°C pendant 8 heures puis on enregistre le poids sec. Les données que l'on obtient sont analysées de manière statistique (Kempthorne, 1952 ; Fisher et Yates, 1963). On réalise le test multiple de Duncan et l'analyse de régression pour faire ressortir la signification des différences et de la mortalité en fonction des doses avec les différents traitements.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données présentées dans le Tableau I révèlent que tous les traitements sont significatifs sur le plan statistique par rapport au témoin et il s'avère que la mortalité des adultes dépend de la dose. On enregistre la mortalité maximum (86,80 %) avec la dose de 15 ppm après 120 heures par comparaison au témoin (4,45 %) tandis que le poids des excréments est maximum (0,847 g / traitement) pour le témoin par comparaison à la dose de 15 ppm pour laquelle on ne recueille que 0,140 g d'excréments / traitement, ce qui indique clairement la propriété antiappétente de l'azadiractine envers *M. viridanus*. On réalise le test de Duncan et il s'avère que les doses de 6 ; 7,5 ; 9 ; 10,5 et 12 ppm ont un rôle positif et significatif pour supprimer le parasite au bout de 120 heures. Dans la continuité, on réalise l'analyse de régression entre les doses et la mortalité après 120 heures et il s'avère que la variation de 91 % s'explique par les différentes doses ($R^2 = 0,918$). L'azadiractine est un insecticide systémique et agit de deux façons, d'abord comme un repoussant et un inhibiteur de l'alimentation (antiappétent), ensuite il dérègle l'équilibre hormonal de l'insecte de sorte que les insectes sont atteints de manière permanente (Biswas et coll., 1995). On s'intéresse aux extraits de margousier parce qu'ils sont facilement biodégradables, facilement disponibles et parce qu'il est plus difficile pour les insectes de développer une résistance à une combinaison de substances chimiques dérivées des plantes qu'à un composant synthétique unique (Sidhu, 1995). D'après Biswas et coll., (1995) l'azadiractine comprend 20 ingrédients et c'est pour cette raison qu'il est difficile pour un insecte de développer une résistance à tous les composants.

La vaporisation foliaire de solution aqueuse d'azadiractine (15 ppm) a un effet puissant contre le charançon de la cendre. La lutte contre les parasites d'une manière non nuisible à l'environnement a un effet direct sur la lutte naturelle contre des parasites variés et sur la conservation de la richesse de la forêt. De plus, on a déjà réalisé une évaluation biologique dans l'écosystème forestier et on a trouvé

qu'on peut réussir l'élevage du ver à soie après 5 jours de vaporisation foliaire de 15 ppm d'azadiractine sur les plantes hôtes du tassar sans effet néfaste sur les paramètres importants de l'élevage et du grainage du ver à soie tels que le pourcentage d'élevage, le poids larvaire, le poids de la coque, le poids du cocon, le pourcentage de richesse soyeuse, le pourcentage d'accouplement, la fécondité et le pourcentage d'éclosion (Sharma et coll., 2002a).

La période d'utilisation de l'azadiractine sans risque pour le ver à soie du tassar indique que le produit dérivé de la plante se dégrade rapidement sur le terrain et on ne remarque pas d'effets résiduels de la toxicité par la suite. La période d'utilisation sans risque indique aussi que l'effet du produit est limité et qu'il est nécessaire de faire une application par la suite pour lutter contre le parasite (Sharma et coll., 2002 b, c, d).

EVALUATION OF SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) BREEDS FROM IRAN INFECTED BY WHITE MUSCARDINE FUNGUS

A. SEIDAVI, M. GHOLAMI & M. BIABANI

Research Department, Iran Silkworm Rearing Co., Rasht, I R. Iran.

White muscardine is one of the prevalent diseases of the sericulture industry which is not remediable. Therefore selection of resistant breeds is the best strategy for decreasing damages among farmers. Furthermore, recognition of resistant breeds is essential for transmission of resistance genes in the breeding of silkworm breeds.

*This experiment was conducted to determine the performance of commercial pure lines of silkworm *Bombyx mori* under stress of white muscardine fungus. In this experiment accomplished during summer and autumn 2000, 9 commercial pure lines by means of a completely randomised design with 5 replications for each treatment were used and the economical traits including pupation rate, larval duration, single cocoon weight, single shell weight and shell ratio were recorded and analysed.*

From the obtained results, line 107 showed the highest pupation rate ($P < 0.05$). Furthermore, lines 32, 104, 110 and Y showed the shortest larval duration ($P < 0.05$). Likewise line 31 significantly ($P < 0.05$) had the superior performance in comparison to other lines for single cocoon weight. Also line 31 significantly ($P < 0.05$) showed the highest single shell weight. Furthermore, line 32 showed the highest shell ratio significantly ($P < 0.05$).

Keywords: Silkworm, white muscardine, performance, resistance of lines.

INTRODUCTION

At the present time Iran Silkworm Rearing Co. produces many pure lines of silkworm *Bombyx mori* in Iran. These pure lines have different genetic potential and different performances. Thus, it is necessary that we know their genetical and phenotypical characters for future genetic improvement purposes.

On the other hand, at the farmer's field conditions, disease incidence is very possible. Thus resistant pure lines selection is very important for prevention of a decrease in production.

White muscardine disease is one of the prevalent diseases in the sericulture industry which causes many damages to this industry (Lu and Liu, 1991). This disease damages the sericulture world-wide (Chishti and Sohaf, 1989; Jayaramaiah and Kuberappa, 1987; Pitta *et al.*, 1990; Rao *et al.*, 1991; Samson *et al.*, 1990; Serini, 1994; Yuplian and Fuan, 1991). Pathogen of disease i.e. *Beauveria bassiana* belongs to Moniliales order, Moniliaceae family and Beauveria genus (Yuplian and Fuan, 1991) and acts as a pest for other harmful insects. Thus researches are conducted regarding its artificial culture (Lee *et al.*, 1996). Muscardine disease is classified into different types on the base of spore colour of pathogen which cover larvae carcass after its death (Ferron, 1990; Jolly, 1987; Shi and Jin, 1993; Yuplian and Fuan, 1991). White muscardine, the most current fungus disease, occurs during the rainy seasons and autumn rearing especially (Ferron, 1990; Jolly, 1987; Shi and Jin, 1993; Yuplian

and Fuan, 1991). Different studies indicated that there is a temporary cellular response during confrontation with fungus spores of this disease (Hou and Chang, 1985). Many studies are conducted on the subject of haemolymph biochemical alterations during incidence of white muscardine disease (Eguchi, 1992; Shimizu *et al.*, 1993; Yoshida *et al.*, 1990). In this manner, many studies are conducted on the subject of application effects of plant extracts as anti-fungus for inactivation of fungus (Raghavaiah and Jayaramaiah, 1987; Raghavaiah and Jayaramaiah, 1990) which did not lead to practical methods. Furthermore, the pathogenicity of different isolates fungus are studied. It is showed that one of these isolates with 10^7 spores / ml concentration resulted in maximum mortality (Gao *et al.*, 1992; Nunez, 1994). Furthermore 18 elements and 17 amino acids have been isolated by haemolymph analysis of infected larvae (Wei, 1995). Meanwhile, it is reported that there are positive correlations between number of pathogen's spores and larval mortality (Ferron, 1990). Many studies have shown that different breeds of silkworm *Bombyx mori* have different resistance against muscardine (Lee *et al.*, 1989; Raghavaiah and Jayaramaiah, 1990; Shi and Jin, 1993). Furthermore, different researches on the subject of different materials effect for disinfection and disease control have been implemented (Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1994a; Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1994b; Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1996; Bhattacharaya *et al.*, 1997; Baig *et al.*, 1993; Byrareddy *et al.*, 1993; Javaregowda *et al.*, 1994; Kuberappa and Jayaramaiah, 1988; Lee and Lee, 1993; Reedy *et al.*, 1990; Samson *et al.*, 1985; Samson *et al.*, 1995; Zhou *et al.*, 1990). In spite of many studies and researches, there is no practical and economical method for definite remedy of mentioned disease yet. Thus in the current situation, appropriate methods include observance of health principles, improvement of managerial conditions of larvae rearing and selection of resistant breeds. However, final selection of pure lines is conducted regarding other potential characteristics and specifications for all economical factors i.e. resistance to other diseases and final performances. In this manner, if one or some resistant pure lines have not high yield it is possible to transmit resistant genes of these pure lines by means of appropriate breeding techniques.

MATERIALS AND METHODS

This research was carried out by the Research Unit of Iran Silkworm Rearing Co. during summer and autumn 2000. We used some bivoltine pure lines namely 31, 32, 103, 104, 107, 109, 110, Y and 101433 and studied their performance under stress of white muscardine infection. These pure lines were reared under standard conditions until end of 3rd instar. Then the fungus spores were sprayed on them uniformly (Seidavi *et al.*, 2000; Anonymous, 1998; Sreedhara *et al.*, 1991). First we prepared several infected larvae carcass which were placed in the distilled water for isolation of spores. Supplied solution was filtrated using sterile gauze filter. Then it was centrifugated at 2500 rpm for 10 minutes and precipitates (pellet) were isolated. Spores number was counted using haemocytometer under microscope and a suspension with 5×10^6 spores / ml concentration (4cc sprayed per 300 worms) was applied uniformly (Seidavi *et al.*, 2000; Anonymous, 1998; Sreedhara *et al.*, 1991). After artificial infection and rearing (Ito and Kobayashi, 1978; Jolly, 1987) economical traits including pupation rate, larval duration, single cocoon weight, single shell weight and shell ratio were recorded and analysed. All the data were set and analysed with IRRISTAT¹ statistical software. These data were based on a completely randomised design (C.R.D) including nine treatments and five replications each with 300 larvae. Furthermore, data above 70% or below 30%, underwent inverse sin transformation ($Z = \text{Arcsin } P_{ij}^{1/2}$) and data between 0-1, undergone square transformation ($P^{1/2}$). Finally we compared them by means of Duncan test (Yazdi Samadi *et al.*, 1997).

RESULTS AND DISCUSSION

From the obtained results, it was clear that different pure lines of silkworm *Bombyx mori* showed different performance under stress of white muscardine fungus. Results of Duncan test are shown in Table I.

Table I. Mean comparison of measured characters.

Tableau I. Comparaison des moyennes des caractères mesurés.

Measured characters <i>Caractères mesurés</i>	Lines / Lignées								
	31	32	103	104	107	109	110	101433	Y
Pupation rate (%) <i>Taux de nymphose (%)</i>	71.0ab	62.11abc	42.11c	48.59bc	75.79a	73.38a	69.66ab	39.78c	40.84c
Larval duration (Days : Hours) <i>Durée larvaire (Jours : Heures)</i>	24 : 22b	24 : 01a	24 : 20b	24 : 03a	24 : 08 ab	24 : 11ab	23 : 21a	24 : 19b	24 : 04a
Single cocoon weight (g) <i>Poids d'un cocon (g)</i>	1.384a	1.225bc	1.274abc	1.179bc	1.199bc	1.324ab	1.187bc	1.166bc	1.124c
Single shell weight (g) <i>Poids d'une coque (g)</i>	0.362a	0.337a	0.350a	0.342a	0.294ab	0.306ab	0.298ab	0.229b	0.314ab
Shell ratio (%) <i>Richesse soyeuse (%)</i>	22.27ab	23.81a	22.18ab	22.36ab	22.58ab	21.0ab	21.47ab	18.0b	22.59ab

Means followed by different letters are significantly different at the 5% level ($P < 0.05$) by DMRT. / *Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 % ($P < 0.05$) par DMRT.*

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level ($P < 0.05$) by DMRT. / *Les moyennes suivies par une lettre commune ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % ($P < 0.05$) par DMRT.*

The analysis of variance regarding studied traits, showed that different pure lines have not significant difference for number of live larvae ($P < 0.05$). However, using Duncan test, it was shown that Y pure line with 91 live larvae at the end of 5th instar had the highest resistance to this disease and 32 and 101433 pure lines also with 47.2 and 47.8 live larvae, showed the lowest resistance to white muscardine disease respectively. In fact, we must pool these data and select the best pure lines in accordance with economical coefficients, environmental conditions, rearing management and previous experiences. Results of ANOVA for obtained data showed studied pure lines had not significant difference for number of live pupae ($P < 0.05$). Furthermore by means of Duncan test, it was shown that 109 pure lines with 51.6 live pupae had the highest live pupae and 101433 and 32 with 26.0 and 31.2 live pupae had the lowest live pupae respectively. However, studied pure lines showed significant different for pupation rate ($P < 0.01$), so 107 and 109 pure lines with 75.79% and 73.38% pupation rate, had high vitality (class a) and 101433, Y and 103 with 39.38%, 40.84% and 42.11% live pupae have the least pupation rate and lied at the class c ($P < 0.05$). Furthermore, it was shown that studied pure lines has significant difference in connection with single cocoon weight ($P < 0.05$). In this manner 31 pure line with 1.384g (class a) and Y and 10433 with 1.124 and 1.166g (class c and class bc respectively) presented the highest and the lowest values ($P < 0.05$), likewise although results of ANOVA showed that studied pure lines did not have significant difference in

connection with single shell weight by means of Duncan test, it was showed that 31 (0.362g), 103 (0.350g), 104 (0.342 g) and 32 (0.337 g) pure lines had the highest single shell weight respectively and lied at class a and 101433 with 0.229g (class b) had the lowest single shell weight ($P < 0.05$). In this manner, although results of ANOVA have not shown a significant difference of shell ratio, Duncan test showed that 32 pure line (23.814%) had the highest shell ratio and lied at class a and 101433 pure line with 18.00% of shell ratio had the lowest shell ratio and lied at class b ($P < 0.05$). Likewise, from results of ANOVA, it was revealed that studied pure lines had significant difference in connection with larval duration ($P < 0.01$). 110 pure line with 23:21 (days : Hours) had the shortest larval duration (class a) and 31 pure line with 24 : 22 (Days : Hours) had the longest larval duration and lied at class b ($P < 0.05$). However, we must notice that percentage of the best, middle, low and double cocoon were calculated on the basis of the number in each group / total number of cocoons. Therefore, investigation per group cocoon alone is not appropriate for our purpose, because high percentage of the best cocoon will be useful only when those lines have many best cocoons. Therefore, investigation on each class of cocoon for different pure lines is useful only for detection of ability of cocoon production. In this manner, it is considered that commercial pure lines of silkworm have different genetical abilities. These results will confirm reports of Lee *et al.*, (1989), Raghavaiah and Sayaramaiah (1990) and finally that of Shi and Jin (1993) who emphasized the differences among pure silkworm lines at resistance to white muscardine disease. Furthermore, Y and 103 pure lines entirely had the highest number of live larvae, produced cocoons and number of best cocoons. Mrnyionrf pure lines besides 109, 107 and 103 which showed the highest percentage of vital pupae, have good genetic potential. Likewise, since 31 pure line has the highest single cocoon weight and cocoon shell weight, besides 32 pure line which has the highest percentage of cocoon shell, it is possible to increase their resistance using the appropriate breeding programs and transmit appropriate genes to those breeds which have one or more non-appropriate traits. Furthermore, calculation of economical coefficients of these traits and genotype and phenotype variance and co-variance and general and specifical combining abilities for estimation of heritability and other genetic parameters can be recommended.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Mr S. M. Mirzaghafour, general director of Iran Silkworm Rearing Co. for his support to this research. Furthermore authors also wish to thank Mr M. Mavvajpour and Mr I. Kazemi for their help in this research.

REFERENCES

- AMEL HASHEMIPOOR S. (1998) Iran Agriculture at 1997. (First edit.). Agricultural Ministry Press, pp. 94.
- ANONYMOUS (1998) The practice of egg production, silkworm rearing & disease control, pp. 82.
- BAIG M., SAMSON M. V., S. D. SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SASIDHARAN T. O., JOLLY M. S. (1993) Efficacy of certain bed disinfectants in different combinations against the nuclear polyhedrosis and white muscardine of the silkworm, *Bombyx mori* journal of silkworm, *Bombyx mori* L., Indian Journal of Sericulture. 33(1): 53-60.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., DATTA R. K., BAIG M., NATARAJU B., IYENGAR M. N. S. (1994) Efficacy of bleaching powder as a disinfectant against the pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian Journal of Sericulture. 33(1): 23-26.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., NATARAJU B., BAIG M., DATTA P. K. (1994) Comparative efficacy of different disinfectants against nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) and *Beauveria bassiana* of silkworm *Bombyx mori*. Indian Journal of Sericulture. 33(2): 142-145.

- BALAVENKATASUBBAIAH M, NATARAJU B., DATTA P. K. (1996) Chlorine dioxide and virkons as disinfectants against pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian Journal of Sericulture. 35(1): 50-53.
- BHATTACHARYA J., KRISHNAN N., CHANDRA A. K., SEN S. K., SARATCHANDRA B. (1997) Efficacy of three disinfectants on inactivation of nuclear polyhedrosis virus, *Beauveria bassiana* and *Nosema bombycis* infecting silkworm *Bombyx mori* L. Environment and Ecology. 15(3): 493-496.
- BYRAREDDY M. S., DEVAIAH M. C., GOVINDAN R., NARAYANA SWAMY T. K., SHYMALA M. B. (1993) Effect of some disinfectants in prevention of silkworm white muscardine J. Current Research University of Agriculture Sciences. Bangalore. 22: 6-8 & 97-98.
- CHISHTI M. Z., SOHAF K. A. (1989) Studies on the fungal disease of silkworm, *Bombyx mori* in Kashmir Journal of Entomological Research. 13 (1-2): 72-75.
- EGUCHI M. (1992) Protein protease inhibitors in the silkworm with special references to the characteristics of the fungal protease inhibitors of *Bombyx mori*. Indian Journal of Sericulture. 31(2): 93-95.
- FERRON P. (1990) Pest control by the fungi *beauveria* and *metarhizium*. P 465-479.
- GAO Y. Z., LIU S. M., WU Y. L., ZHANG T., QING L., FANG S. Z. (1992) Identification of the pathogen of white muscardine infesting Japanese oak silkworm and its pathogenicity. Journal of Shenyang Agriculture University. 23(3): 224-226.
- HOU R. F., CHANG K. (1985) Cellular defence response to *Beauveria bassiana* in the silkworm *Bombyx mori*. Applied Entomology and zoology. 20(2): 118-125.
- ITO T., KOBAYASHI M. (1978) Rearing of silkworm. In "The Silkworm, An important laboratory tool". Kodansha Ltd. Tokyo, pp 297.
- JAVAREGOWDA B. L., VISWESWARAGOWDA, JAYSRAMAIAH M. (1994) Effect of solar heat treatment (sundrying) on inactivation of the muscardine fungus *Beauveria bassiana* infecting the silkworm *Bombyx mori*. J. Entomon. 19(1-2): 7-12.
- JAYARAMAIAH M., KUBERAPPA G. C. (1987) Silkworm mycoses. UAS Technical Series, University of Agricultural Sciences, India. No. 48, vii.
- JAYARAMAIAH M., VEERESH G. K. (1983) Studies on the symptoms of infection caused by the new silkworm white muscardine fungus *Beauveria brongniartii* patch to different stage of white grub *Holotrichia serrata* Fab. (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of soil Biology and Ecology. 3(1): 7-12.
- JOLLY M. S. (1987) Appropriate sericulture techniques. Geetanjali printers. Bangalore, pp 176.
- KUBERAPPA G. C., JAYARAMAIAH M. (1988) Effect of fungicidal application against the white muscardine disease on the cocoon weight of the silkworm *Bombyx mori*. Mysore Journal of Agriculture Science. 22(1): 43-47.
- LEE S. M., LEE D. W., PARK J. D., MOON Y. S., PARK K. S. (1996) Development of economical culture media and technique for the mass production of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* GY1-17, *B. felina*_GHI and *Metharizium anisopliae* CN14. FRI Journal of Forest Science Seoul. No. 54: 15-22.
- LEE Y. K., LEE J. C. (1993) Disinfection effect of a new paraformaldehyde fumigant on silkworm pathogens. RDA Journal of Agricultural Science, Farm Management, Agricultural Engineering, Sericulture and Farm Products. 35(1): 787-790.
- LEE Y. K., LEE J. C., HAN M. S. (1989) Resistance of varieties of the silkworm, *Bombyx mori* to the white muscardine (*Beauveria* sp.). Research reports of the Rural Development Administration. 31(2): 7-12.
- LU YUP L., LIU F. (1991) Silkworm disease. FAO Agricultural Services Bulletin (73/4), pp 75.
- NOURI GANBALANI G., AKBARIAN J. (1997) Natural enemies of the colorado potato Beetle in Ardabil. In "Proceeding of the 13th Iranian Plant Protection Congress". Vol 1. pp 99.
- NUNEZ J. C. L. (1994) Pathogenicity of four isolates of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (Hyphomycetes) on larvae of *Bombyx mori* (L.) (Lepidoptera: Bombycidae) under laboratory conditions. Revista Colombiana de Entomologia. 20(1): 53-60.

- PITTA G. P. B., Bergmann E. C., MARTINS W. R. (1990) Study of a fungal disease of the silkworm (*Bombyx mori* L.). *Ecosistema* No 15: 119-125.
- RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M. (1987) Antifungal activity of selected plant extracts against the white muscardine fungus. *Current Research University of Agricultural Sciences Bangalore*. 17(5): 62-64.
- RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M. (1990) Efficacy of selected plant extracts in reducing the white muscardine disease (*Beauveria bassiana*) of silkworm, *Bombyx mori* Linn. *Mysore Journal of Agricultural sciences*. 24(1): 89-92.
- RAGHAVIAH G., JAYARAMAIAH M. (1990) Susceptibility of some races of the silkworm, *Bombyx mori* to white muscardine disease. *Indian Journal of Sericulture*. 29(2): 304-307.
- RAO G. S., CHANDRA A. K., BHATTACHARYA J. (1991) Incidence of crop loss from adopted rearers levels in West Bengal due to silkworm disease. *Indian Journal of Sericulture*: 30(2): 167.
- REEDY S. V., SINGH B. D., BAIG M., SENGUPTA K., GIRIDHAR K., SINGHAL B. K. (1990) Efficacy of Asiphor as a disinfectant against incidence of disease of silkworm *Bombyx mori*. *Indian journal of sericulture*. 29(1): 147-148.
- SAMSON M. V., BAIG M., SAPRU M. L., NARASIMHANNA M. N. (1986) Efficacy of certain fungicides and disinfectants for the control of white muscardine disease in mulberry silkworm. *Indian Journal of Sericulture*. 25(2): 78-83.
- SAMSON M. V., BAIG M., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SASIDHARAN T. O. & JOLLY M. S. (1990) Survey on relative incidence of silkworm disease in Karnatak, India. *Indian Journal of Sericulture*. 29(2): 248-254.
- SAMSON M. V., SASIDHARAN T. O., SINGH R. N., SANTHA P. C., SURYANA-RAYANA V., MANJULA A., CHANDRASHEKARAIAH A. (1995) Efficacy of the disinfectant "Disfect-S" against pathogens of the silkworm, *Bombyx mori*. *Madras Agricultural Journal*. 82(2): 93-98.
- SEIDAVI A., BIABANI M., GHOLAMI M. (2000) Selection of robust and resistant of Iranian commercial pure lines of silkworm *Bombyx mori* to white muscardine, In "Proceeding of the 14th Iranian Plant Protection Congress". Vol I. pp. 205.
- SERINI G. B. (1994) Studies about silkworms during XIX and XX centuries in Lombard. *Memorie della Societa Entomologica Italian*. No. 72: 507-520.
- SHI L., JIN W. (1993) Advances in silkworm mycoses research. *Journal of silkworm*. 33(1): 1-8.
- SHIMUZU S., TSUCHITANI Y., MATSUMOTO T. (1993) Production of an extracellular protease by *Beauveria bassiana* in the haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *Letters in Applied Microbiology*. 16(6): 291-294.
- SOHAF K. A., CHISHTI M. Z., TRAG A. R. (1993) Histopathology of the silkworm *Bombyx mori* L. infected with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Indian Journal of Sericulture*. 32(2): 213-215.
- SREEDHARA V. M., SHREE M. P., BORAIAH, FLETCHER R. A. (1991) Muscardine disease of silkworms controlled by triazoles. *Journal of silkworms*. 31(3): 423-426.
- WEI G. Q. (1995) Analysis of chemical compounds in the larva of a silkworm with botrytis. *Journal of Jilin Agricultural University*. 17(3): 46-49.
- YOSHIDA S., YAMASHITA M., YONEHARA S., EGUCHI M. (1990) Properties of fungal protease inhibitors from the integument and haemolymph of the silkworm and effect of an inhibitor on the fungal growth. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 95(3): 559-564.
- YAZDI SAMADI B., REZAEI A., VALIZADE M. (1997) Statistical designs in the agricultural researches. (first edit) Tehran University press.
- YUPLIAN L., FUAN L. (1991) Silkworm disease. Food and agriculture organization of the United Nations. Roma.
- ZHOU C. Q., LIANG M. Z., LI Y. Z., LI S. Z., PAN M. H. TAN Z. D. (1990) New chemical agent Kejiang-1 and Kelusu for control of silkworm diseases. *Acta Sericologica Sinica*. 16(3): 135-139.

EVALUATION DE LIGNEES DU VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.) PROVENANT D'IRAN INFESTEES PAR LE CHAMPIGNON DE LA MUSCARDINE BLANCHE

A. SEIDAVI, M. GHOLAMI & M. BIABANI

Research Department, Iran Silkworm Rearing Co, Rasht, I R. Iran

La muscardine blanche est l'une des principales maladies de l'industrie séricicole à laquelle on ne peut pas remédier. La sélection de lignées résistantes est donc la meilleure stratégie pour diminuer les dégâts chez les fermiers. De plus, la reconnaissance de lignées résistantes est essentielle pour la transmission des gènes de résistance dans le lignage du ver à soie.

*L'expérience a été réalisée pour déterminer la performance de lignées commerciales pures du ver à soie *Bombyx mori* ayant subi le stress du champignon de la muscardine blanche. Dans cette expérience réalisée pendant l'été et l'automne 2000, on utilise 9 lignées commerciales pures selon une conception complètement aléatoire avec 5 répétitions pour chaque traitement et on enregistre et on analyse les caractéristiques économiques dont le taux de nymphose, la durée larvaire, le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse.*

D'après les résultats obtenus, la lignée 107 présentent le taux de nymphose le plus élevé ($P < 0,05$). De plus, les lignées 32, 104, 110 et Y présentent la durée larvaire la plus courte ($P < 0,05$). De même la lignée 31 a une performance significativement meilleure ($P < 0,05$) par comparaison aux autres lignées pour le poids d'un cocon. La lignée 31 présente un poids de coque significativement plus élevé ($P < 0,05$). De plus, la lignée 32 présente la richesse soyeuse significativement la plus élevée ($P < 0,05$).

INTRODUCTION

A l'heure actuelle l'Iran Silkworm Rearing Co. produit de nombreuses lignées pures du ver à soie *Bombyx mori*. Ces lignées pures ont un potentiel génétique différent et des performances différentes. Il est donc nécessaire que nous connaissions leurs caractéristiques génétiques et phénotypiques dans des buts d'amélioration génétique futurs.

D'autre part, au niveau du terrain pour les fermiers, il y a des incidences des maladies. La sélection de lignées pures résistantes est très importante pour enrayer la diminution de la production.

La maladie de la muscardine blanche est l'une des principales maladies de l'industrie séricicole et elle entraîne des dégâts importants pour cette industrie (Lu et Liu, 1991). Cette maladie provoque des dégâts pour la sériciculture dans le monde entier (Chishti et Sohaf, 1989 ; Jayaramaiah et Kuberappa, 1987 ; Pitta et coll., 1990 ; Rao et coll., 1991 ; Samson et coll., 1990 ; Serini, 1994 ; Yuplian et Fuan, 1991). Le pathogène de la maladie *Beauveria bassiana* qui appartient à l'ordre des Moniliales, à la famille des Moniliaceae et au genre *Beauveria* (Yuplian et Fuan, 1991) est un parasite pour d'autres insectes nuisibles. On a donc entrepris des recherches concernant sa culture artificielle (Lee et coll., 1996). La maladie de la muscardine est classifiée en types différents selon la couleur des spores du pathogène qui couvrent les carcasses des larves après leur mort (Ferron, 1990 ; Jolly, 1987 ; Shi et Jin, 1993 ; Yuplian et Fuan, 1991). La muscardine blanche, la maladie fongique la plus

courante, a lieu surtout pendant la saison des pluies et pendant l'élevage d'automne (Ferron, 1990 ; Jolly, 1987 ; Shi et Jin, 1993 ; Yuplian et Fuan, 1991).

Les différentes études indiquent qu'il y a une réponse cellulaire temporaire pendant la confrontation avec les spores du champignon de cette maladie (Hou et Chang, 1985). De nombreuses études ont été réalisées au sujet des altérations biochimiques de l'hémolymphe pendant l'incidence de la maladie de la muscardine blanche (Eguchi, 1992 ; Shimizu et coll., 1993 ; Yoshida et coll., 1990). Parallèlement, de nombreuses études ont été réalisées à propos des effets de l'application d'extraits de plantes pour inactiver les champignons (Raghavaiah et Jayaramaiah, 1987 ; Raghavaiah et Jayaramaiah, 1990) mais elles n'ont pas abouti à des méthodes pratiques. De plus, on a étudié la pathogénicité des différents isolats du champignon. On a montré que l'un de ces isolats avec une concentration de 10^7 spores / ml donne la mortalité maximum (Gao et coll., 1992 ; Nunez, 1994). D'après l'analyse de l'hémolymphe des larves infestées on a isolé 18 éléments et 17 acides aminés (Wci, 1995). Entre-temps, on a rapporté qu'il y avait des corrélations positives entre le nombre de spores des pathogènes et la mortalité larvaire (Ferron, 1990). De nombreuses études ont montré que les différentes lignées du ver à soie *Bombyx mori* ont une résistance différente à la muscardine (Lee et coll., 1989 ; Raghavaiah et Jayaramaiah, 1990 ; Shi et Jin, 1993). Par ailleurs, on a mis en pratique les différentes recherches à propos de l'effet de différents matériels de désinfection et de lutte contre les maladies (Balavenkatasubbaiah et coll., 1994a ; Balavenkatasubbaiah et coll., 1994b ; Balavenkatasubbaiah et coll., 1996 ; Bhattacharaya et coll., 1997 ; Baig et coll., 1993 ; Byrareddy et coll., 1993 ; Javaregowda et coll., 1994 ; Kuberappa et Jayaramaiah, 1988 ; Lee et Lee, 1993 ; Reedy et coll., 1990 ; Samson et coll., 1985 ; Samson et coll., 1995 ; Zhou et coll., 1990). Malgré de nombreuses études et recherches, il n'y a pas encore de méthode pratique et économique pour remédier définitivement à cette maladie. Ainsi, dans cette situation, les méthodes adaptées comprennent l'observation des principes d'hygiène, l'amélioration des conditions de la gestion de l'élevage des larves et la sélection de lignées résistantes. Cependant, on a réalisé la sélection finale des lignées pures concernant d'autres caractéristiques et particularités pour tous les facteurs économiques c'est à dire la résistance à d'autres maladies et les performances finales. De cette manière, si une ou plusieurs lignées résistantes pures n'ont pas un rendement élevé, ou les gènes de résistance, il est possible de transmettre les gènes résistants de ces lignées pures au moyen de techniques de lignage appropriées.

MATERIELS ET METHODES

Cette recherche a été réalisée par l'Unité de Recherche de l'Iran *Silkworm Rearing Co.* pendant l'été et l'automne 2000. Nous avons utilisé des lignées bivoltines pures à savoir 31, 32, 103, 104, 107, 109, 110, Y et 101433 et étudié leur performance sous le stress de l'infestation par la muscardine blanche. On élève ces lignées pures d'après les conditions habituelles jusqu'à la fin du 3^{ème} âge. Puis on leur vaporise les spores du champignon de manière uniforme (Seidavi et coll., 2000 ; Anonyme, 1998 ; Sreedhara et coll., 1991). D'abord, nous préparons plusieurs carcasses de larves infestées qui sont placées dans de l'eau distillée pour l'isolement des spores. On filtre la solution fournie avec une gaze stérile. Puis on la centrifuge à 2500 rpm pendant 10 minutes et on isole les précipitats (les culots). On compte le nombre de spores en utilisant un hémocytomètre sous un microscope et on utilise une suspension avec une concentration de 5×10^6 spores / ml (4cc vaporisé pour 300 vers) (Seidavi et coll., 2000 ; Anonyme, 1998 ; Sreedhara et coll., 1991). Après l'infestation artificielle et l'élevage (Ito et Kobayashi, 1978 ; Jolly, 1987) on enregistre et on analyse les caractéristiques économiques dont le taux de nymphose, la durée larvaire, le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse. Toutes les données sont déterminées et analysées avec le logiciel statistique IRRISTAT. Ces données sont basées sur une conception complètement aléatoire (C. R. D) comprenant neuf traitements et cinq répétitions de 300 larves chacune. De plus, les données au-dessus de 70 % ou en dessous de 30 % subissent une transformation sin inverse ($Z = \text{Arcsin } P^{1/2}$) et les données entre 0-1

subissent une transformation au carré ($P^{1/2}$). Finalement, nous les avons comparées au moyen du test de Duncan (Yazdi Samadi et coll., 1997).

RESULTATS ET DISCUSSION

D'après les résultats obtenus, il est clair que les différentes lignées pures du ver à soie *Bombyx mori* présentent une performance différente sous le stress du champignon de la muscardine blanche. Les résultats du test de Duncan sont présentés dans le Tableau I.

L'analyse de variance concernant les caractères étudiés montre que les différentes lignées pures n'ont pas une différence significative pour le nombre de larves vivantes ($P < 0,05$). Cependant, le test de Duncan, montre que la lignée pure Y avec 91 larves vivantes à la fin du 5^{ème} âge présente la résistance la plus élevée à cette maladie et les lignées pures 32 et 101433 avec 47,2 et 47,8 larves vivantes présentent respectivement la résistance la plus basse à la maladie de la muscardine blanche. En fait, nous devons regrouper ces données et sélectionner les meilleures lignées pures en accord avec les coefficients économiques, les conditions environnementales, la gestion de l'élevage et les expériences précédentes. Les résultats de l'analyse de variance pour les données obtenues montrent que les lignées pures étudiées ne présentent pas une différence significative pour le nombre de nymphes vivantes ($P < 0,05$). De plus, au moyen du test de Duncan, on voit que les lignées pures avec 51,6 nymphes vivantes ont le nombre le plus élevé de nymphes vivantes et 101433 et 32 avec 26 et 31,2 nymphes vivantes ont respectivement le plus faible nombre de nymphes vivantes. Les lignées pures étudiées présentent une différence significative pour le taux de nymphose ($P < 0,01$), ainsi les lignées 107 et 109 avec un taux de nymphose de 75,79 % et de 73,38 %, ont une vitalité élevée (classe a) et 101433, Y et 103 avec 39,38 % ; 40,84 % et 42,11 % de nymphes vivantes ont le taux de nymphose le plus bas et font partie de la classe c ($P < 0,05$). De plus, on observe que les lignées pures étudiées présentent une différence significative pour le poids d'un cocon ($P < 0,05$). De cette manière la lignée pure 31 avec 1,384 g (classe a) et Y et 10433 avec 1,124 et 1,166 g (respectivement classe c et classe bc) présentent les valeurs les plus élevées et les plus faibles ($P < 0,05$), de même que les résultats de l'analyse de variance montrent que les lignées pures étudiées ne présentent pas une différence significative pour le poids d'une coque : on observe que les lignées pures 31 (0,362 g), 103 (0,350 g), 104 (0,342 g) et 32 (0,337 g) ont respectivement le poids de coque le plus élevé et font partie de la classe a et 101433 avec 0,229 g (classe b) ont le poids de coque le plus faible ($P < 0,05$). De cette manière, bien que les résultats de l'analyse de variance ne montrent pas une différence significative pour la richesse soyeuse, le test de Duncan montre que la lignée pure 32 (23,814 %) a la richesse soyeuse la plus élevée et fait partie de la classe a et la lignée pure 101433 avec une richesse soyeuse de 18 % a la richesse soyeuse la plus faible et appartient à la classe b ($p < 0,05$). Par ailleurs, les résultats de l'analyse de variance montrent que les lignées pures étudiées présentent une différence significative pour la durée larvaire ($P < 0,01$). La lignée pure 110 avec 23 : 21 (jours : heures) a la durée larvaire la plus courte (classe a) et la lignée pure 31 avec 24 : 22 (jours : heures) a la durée larvaire la plus longue et appartient à la classe b ($P < 0,05$). Cependant, il faut noter qu'on calcule le pourcentage de cocons, bons, moyens, faibles et doubles sur la base du nombre / nombre total dans chaque groupe. L'étude pour chaque groupe de cocons n'est donc pas valable dans notre but, parce que le pourcentage élevé des cocons de qualité ne sera utile que quand ces lignées auront beaucoup de cocons de qualité. L'étude sur chaque classe de cocons chez les différentes lignées pures n'est donc utile que pour détecter la capacité de production des cocons. De cette manière, on considère que les lignées pures du ver à soie ont des capacités génétiques différentes. Ces résultats confirment les rapports de Lee et coll., (1989), Raghavaiah et Sayaramaiah (1990) et finalement ceux de Shi et Jin (1993) qui ont souligné les différences de résistance à la maladie de la muscardine blanche entre les lignées pures du ver à soie. Les lignées pures Y et 103 ont le nombre le plus élevé de larves vivantes, de cocons produits, et de cocons de qualité. En dehors de 109, 107 et 103 qui présentent le pourcentage le plus élevé de nymphes vivantes, les lignées pures mentionnées ont un bon potentiel génétique.

C'est le cas de la lignée pure 31 qui a les poids de cocon et de coque les plus élevés, tout comme la lignée pure 32 qui a le pourcentage le plus élevé de coques soyeuses. Il est possible d'augmenter leur résistance en utilisant des programmes de lignage appropriés et en transmettant les gènes appropriés aux lignées qui ont un caractère faible. Par ailleurs, on peut recommander de calculer les coefficients économiques de ces caractères et la variance du génotype et du phénotype, la covariance en général et les capacités de combinaison spécifique pour l'estimation de l'héritabilité et des autres paramètres génétiques.

EFFECT OF PLANT PRODUCTS AND CONTAINERS ON CASTOR SEED GERMINATION

RANJANA DAS & K. DAS

Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh -785700,
Jorhat (Assam) India.

*Castor seeds were treated with plant leaf powders recorded higher rate of germination which was comparable to fungicide treatment. The seeds treated with neem (*Azadirachta indica* A. Juss), leaf powder and stored in polythene bags recorded higher germination than the control. Among the containers polythene bag was found to be the best.*

Keywords: Castor seeds, carbendazim, containers, fungi, germination, plant leaf powder.

INTRODUCTION.

Castor (*Ricinus communis* L.) is an economically important plants as oil seed and food plant of Eri silkworm (*Philosamia ricini* Hutt.). The seeds of castor are infected by fungi naturally under field conditions. Fungi like *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Botrytis ricini*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, and *Fusarium moniliforme* are associated with these seeds under field condition (Srinivasulu *et al.*, 1990 ; Das and Das, 2002). These infected seeds are failed to germinate and are poor in quality. The frequently occurring fungal species in stored grain in the container has been reported by several workers (Narasimhan *et al.*, 1985; Bathla *et al.*, 1986 ; Prasad and Shivendrakumar, 1987). In order to over come this adverse effect, seed treatment with fungicides has been advocated usually. With the increase of awareness on toxic hazards of chemicals to crops consumers and environment due to their phytotoxic residual and pollution effect, the importance of indigenous products in disease control has been emphasized. Alice and Rao (1986) reported that *Mentha piperita* extract significantly reduced the seed infection by *Drechlera oryzae* in rice. Leaf extract from plant species are potent inhibitors against mycoflora (Alice and Rao, 1987; Chaturvedi *et al.* , 1987 ; Grainge and Alvarez, 1987 ; Natarajan and Lalithakumari, 1987). Grewal *et al.*, (1981) reported that Pea seeds when stored in polythene bags were associated with less fungi. In the present study castor seeds treated with plant products and stored in different containers were tested for their germination to select the effective plant product, that is comparable to fungicide as well as a suitable container for storage.

MATERIALS AND METHODS

Fresh castor seeds (red variety) were collected from the castor growing villages at Jorhat, Assam. The leaves of the following plant species, neem (*Azadirachta indica* A.Juss.), garlic (*Allium sativum* L.), betel vine (*Piper betel* L.) datura (*Datura alba* L) and lantana (*Lantana camera* L.) were dried and ground into fine powder with the help of blender. Then the leaf powder were mixed with castor seeds individually at the rate of 4 (four) g per kg of seeds (Sivaprakasam and Seetharaman, 1994). Seed treated with fungicide carbendazim (2g /kg) and untreated seeds were maintained as

control. Then the seeds were stored in different containers namely, polythene bag, paper bag, cloth bag, and gunny bag. Three replications were maintained in laboratory condition at $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Seeds samples were drawn and tested for germination at monthly interval for 3 (three) months.

RESULTS AND DISCUSSION

It was evident from the results that, the plant products and fungicide treated seeds when stored in polythene bag recorded higher seeds germination percentage than the untreated control (Table I). However, the seeds stored in gunny bag or cloth bag also recorded higher rate of germination in some treatments. The germination of carbendazim treatment seeds was found to be the best one among the various treatments. Moreover, the plant products were also recorded comparable efficacy in improving the germination of fungi infected seeds. Among the 5 (five) plant products tested neem recorded the highest seed germination (90.56 percent) in polythene bag, 77.60 percent in paper bag, 63.43 percent in gunny bag and 63.32 percent in cloth bag as against 76.30, 70.81, 62.32 and 60.60 percent respectively in control.

Table I. Effect of plant products and storage containers on germination of castor seeds.

Tableau I. Effet de produits à base de plantes et de récipients de stockage sur la germination des graines de ricin.

Treatments <i>Traitements</i>	Germination percentage / <i>Pourcentage de germination</i>				Mean <i>Moyenne</i>
	Polythene bag <i>Sac en polyéthylène</i>	Paper bag <i>Sac en papier</i>	Gunny bag <i>Sac en toile de jute</i>	Cloth bag <i>Sac en tissu</i>	
Garlic / <i>Ail</i>	83.61	69.30	63.41	63.32	70.00
Neem / <i>Margousier</i>	90.56	77.60	74.11	73.61	79.00
Datura	80.30	71.33	68.34	59.31	69.82
Betel vine / <i>Bétel</i>	78.40	70.41	57.26	60.16	66.60
<i>Lantana camera</i>	75.21	69.61	60.24	58.43	65.91
Carbendazim	94.60	87.30	76.30	70.70	82.22
Control / <i>Témoin</i>	76.30	70.80	62.32	60.60	67.50

CD (P=0.05)

Containers / *Récipients* : 3.720

Treatments / *Traitements* : 4.630

Lakshmanan *et al.* (1988) found that, grain mould of sorghum was effectively controlled by leaf extracts of neem. Narain and Satapathy (1979) reported that, flower, stem and root extracts of *catharanthus rosea* showed antifungal activity against several fungi including *Fusarium* sp. and *Aspergillus niger*. Venkataswar (1985) observed that mycoflora infestation of pulse seeds was less when stored in polythene container. Garlic extract seed treatment significantly reduced the post emergence seedling mortality in jute with significant increase in germination. (Ahmed and Sultan, 1984).

The present study revealed that, dry powder of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) was effective against seed borne fungi of castor and was also comparable to fungicide. Among the different containers tested , seed stored in polythene bag recorded higher germination than those stored in other containers . Grewal *et. al* (1981) stated that pea seeds when stored in polythene bags were associated with less fungi as compared to paper bags. Storage of seeds in airtight and moisture proof containers generally did not favor the fungal invasion. Cloth bag and gunny bag absorb moisture which might have encouraged the invasion of fungi and this is turn affected the germination. Therefore, it is recommended that, castor seed can easily store in polythene bag for longer period in proper mixing with neem (*Azadirachta indica*) powder without loss of seed viability.

REFERENCES

- ALICE D. & RAO A.V.(1986) . Management of seed borne *Drechslera oryzae* in rice with plant extracts. Intl. Rice. Res. Newsletter. 11: 19.
- ALICE D. & RAO A. V. (1987) . Antifungal effects of plant extracts on *Drechslera oryzae* in rice. Intl. Rice Res. Newsletter 12 (2):28.
- BATHLA I S. S. , MIGLANI OBEROI K. & Gupta, J. P. (1986) A study on grain storage tructer and practices in selected villages at Ludhiana district. Bull. Grain. Tech. 24 (1). 24-29.
- CHATURVEDI R., ANUPAMA DIKHIT & DIXIT S. N. (1987) *Adenocalymma allicea*, a new source of natural fungitoxicant. Trop. Agric. 64 (4): 318-322.
- DAS RANJANA & DAS K.(2002) A report on seed mycoflora of muga and eri food plants Indian J. Seric.2002, vol. 41. No.2 153-154.
- GRAINGE M.D. & ALVERAZ A.M. (1987) Antibacterial and antifungal activity of *Artabotrys hexapetalous* leaf extracts. Int. Jour. Tropical Diseases 5 (2): 173-179.
- GREWAL R.K., JHOOTY J.S. AULOK K.S. THIND, T.S JASMIT KOUR (1981) Effect of fungicides on seed borne fungi in *Pea, Var. Bonnevilla* under different storage condition. Pesticides 15 : 23-24.
- LAKHAMANANA, P. PARAMBARAMANI C. & MOHAN S. (1988) Antifungal properties of certain plant extracts on grain mould pathogens of Sorgham bicolor L. . Moench . National Seminar on Management of Crop diseases with plant products. TNAU, P. 16.
- NARASINGHAN K. S., GOWEL M. H. & CHAND (1985) Impact of containers on seed Paddy. Bull. Grain. Tech. 23(30) 269-277.
- NATARAJAN M. R. & LALITHAKUMARI D. (1987) Antifungal activity of the leaf extracts of *Lowsonia inermis* on *Drechslera oryzae*. Indian Phytopath. 40 (3) : 390 –395.
- NARAIN A., SATRAPATHY J. N. (1979) Antifungal characteristic of Vincarosea extracts . Indian Phytopath. 30:36-40.
- PRASED T. & SIVENDRA KUMAR (1987) Effect of different storage system on nutritional changes of paddy by associated fungi. Jour. Indian Bot. Society. 66: 388-391.
- SRINIVASULU B., NARAYANA REDDY P. & SUBHAKAR RAO A. (1990), A Report on Seed Mycoflora from Andhra pradesh . Seed Tech. News Bulletin of the Indian Society of Seed Tech. Vol.20 No 3&4 Page; 6-7.
- VENKATESWARAN K. H. (1979) Studies on Seed mycoflora of Blackgram, Greengram and Redgram T.N.A.U. P: 2

EFFET DE SUBSTANCES VEGETALES ET DES RECIPIENTS SUR LA GERMINATION DES GRAINES DE RICIN

RANJANA DAS & K. DAS

Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh –
758 700, Jorhat (Assam) Inde.

*Les graines de ricin qui sont traitées avec des poudres à base de plantes enregistrent un taux de germination plus élevé qui est comparable au traitement avec un fongicide. Les graines traitées avec de la poudre de feuilles de margousier (*Azadirachta indica* A. Juss) et stockées dans des sacs en polyéthylène ont une germination plus élevée que le témoin. Parmi les différents récipients, le sac en polyéthylène s'avère le meilleur.*

INTRODUCTION

Le ricin (*Ricinus communis* L.) est une plante importante sur le plan économique pour l'huile de ses graines et c'est la plante hôte du ver à soie cri (*Philosamia ricini* Hutt.). Les graines de ricin sont naturellement infestées par des champignons. Les champignons comme *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Botrytis ricini*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata* et *Fusarium moniliforme* sont associés à ces graines sur le terrain (Srinivasulu et coll., 1990, Das et Das, 2002). Ces graines infestées n'arrivent pas à germer et sont de mauvaise qualité. Plusieurs chercheurs ont fait des rapports sur les espèces de champignons fréquemment présentes chez les graines stockées dans des récipients (Narasimhan et coll., 1985 ; Bathla et coll., 1986 ; Prasad et Shivendrakumar, 1987). Pour surmonter cet effet défavorable, on recommande habituellement le traitement des graines avec des fongicides. Depuis l'augmentation de la prise de conscience des risques toxiques des produits chimiques pour les cultures, pour les consommateurs et pour l'environnement en raison de leur effet phytotoxique résiduel et de pollution, on a attiré l'attention sur l'importance des produits indigènes pour lutter contre les maladies. Alice et Rao (1986) ont rapporté que l'extrait de *Mentha piperita* réduit l'infestation des graines par *Drechlera oryzae* de manière significative chez le riz. Les extraits de feuilles d'espèces de plantes sont des inhibiteurs puissants contre la mycoflore (Alice et Rao, 1987 ; Chaturvedi et coll., 1987 ; Grainge et Alvarez, 1987 ; Natarajan et Lalithakumari, 1987). Grewal et coll., (1981) ont rapporté que quand on stocke les graines de pois dans des sacs en polyéthylène elles sont moins contaminées par des champignons. Dans cette étude, nous avons testé la germination des graines de ricin traitées avec des produits à base de plantes et stockées dans différents récipients pour sélectionner un produit à base de plante efficace, comparable à un fongicide ainsi qu'un récipient adapté pour le stockage.

MATERIELS ET METHODES

On recueille des graines de ricin fraîches (variété rouge) dans des villages cultivant le ricin à Jorhat dans l'Assam. Les feuilles des espèces de plantes suivantes c'est à dire, du margousier (*Azadirachta indica* A. Juss.), de l'ail (*Allium sativum* L.), du bétel (*Piper betel* L.), du datura (*Datura alba* L.) et du lantana (*Lantana camera* L.) sont séchées et moulues en poudre fine à l'aide d'un mixer.

alba L.) et du lantana (*Lantana camera* L.) sont séchées et moulues en poudre fine à l'aide d'un mixer. Puis on mélange individuellement la poudre de feuille avec des graines de ricin au taux de 4 g par kg de graines (Sivaprakasam et Seetharaman, 1994). On maintient les graines traitées avec le fongicide carbendazim (2 g / kg) et les graines non traitées comme témoins. Puis on stocke les graines dans différents récipients à savoir des sacs en polyéthylène, des sacs en papier, des sacs en tissu et des sacs en toile de jute. On maintient trois répétitions en laboratoire à $27 \pm 2^\circ$ C. On sort les échantillons de graines et on teste leur germination à un mois d'intervalle pendant trois mois.

RESULTATS ET DISCUSSION

Il est évident d'après les résultats que les graines traitées avec des produits à base de plante et des fongicides et stockées dans des sacs en polyéthylène montrent un meilleur pourcentage de germination que le témoin non traité (Tableau I). Cependant, les graines stockées dans un sac en toile de jute ou un sac en tissu enregistrent aussi un taux de germination plus élevé avec certains traitements. La germination des graines traitées avec du carbendazim s'avère la meilleure parmi les divers traitements. De plus, les produits à base de plantes sont d'une efficacité comparable pour améliorer la germination des graines infestées par les champignons. Parmi les 5 (cinq) produits à base de plantes testés, le margousier donne la germination des graines la plus élevée 90,56 % dans un sac en polyéthylène, 77,60 % dans un sac en papier 63,43 % dans un sac en toile de jute et 63,32 % dans un sac en tissu contre 76,30 ; 70,81 %, 62,32 et 60,60 % respectivement chez le témoin.

Lakshmanan et coll., (1988) ont observé qu'on peut facilement lutter contre la moisissure du grain de sorgho grâce à des extraits foliaires de margousier. Narain et Satapathy (1979) ont rapporté que les extraits de fleur, de tige et de racine de *Catharanthus rosea* ont une activité antifongique contre plusieurs champignons y compris *Fusarium* sp. et *Aspergillus niger*. Venkataswar (1985) a observé que l'infestation de graines de légumes secs par la mycoflore est moindre quand on les stocke dans un récipient en polyéthylène. Le traitement des graines avec un extrait d'ail réduit la mortalité des plantules de jute après leur émergence et donne une augmentation significative de la germination (Ahmed et Sultan, 1984).

Cette étude révèle que la poudre sèche de margousier (*Azadirachta indica* A. Juss) est efficace contre les champignons de la graine de ricin et est comparable à un fongicide. Les graines stockées dans un sac en polyéthylène enregistrent une germination plus élevée que celles qui sont stockées dans d'autres récipients. Grewal et coll., (1981) ont rapporté que quand on stocke les graines de pois dans des sacs en polyéthylène, elles sont moins sujettes à des champignons par comparaison aux sacs en papier. Le stockage des graines dans des récipients hermétiques et résistant à l'humidité en général ne favorise pas l'invasion par les champignons. Les sacs en tissu et les sacs en jute absorbent l'humidité, ce qui pourrait favoriser l'invasion des champignons, ce qui à son tour a un effet sur la germination. Il est donc recommandé de stocker les graines de ricin dans un sac en polyéthylène pendant une période plus longue en les mélangeant correctement avec de la poudre de margousier (*Azadirachta indica*) ce qui n'entraîne pas de perte de viabilité des graines.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	249
General sericulture	
Mûrier	253
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	257
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	261
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	263
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	267
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : oeufs, embryologie	273
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes.	275
Silkworms: silk glands	
Soie	277
Silk	

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / <i>Bulgarian</i> .	(C) Chinois / <i>Chinese</i> .
(D) Allemand / <i>German</i> .	(E) Anglais / <i>English</i> .
(F) Français / <i>French</i> .	(J) Japonais / <i>Japanese</i> .
(I) Italien / <i>Italian</i> .	(Pl) Polonais / <i>Polish</i> .
(K) Coréen / <i>Korean</i> .	(R) Russe / <i>Russian</i> .
(Pt) Portugais / <i>Portuguese</i> .	(S) Espagnol / <i>Spanish</i> .
(Ro) Roumain / <i>Rumanian</i> .	

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.
The corresponding small letters indicate the language of the abstract.

Sériciculture générale

General sericulture

Response of goats to partial replacement of dietary protein by a leaf meal mixture containing *Leucaena leucocephala*, *Morus alba* and *Tectona grandis*.

AMBARASU C., DUTTA N., SHARMA K. and RAWAT A.

2004 *Small Ruminant Research*, Vol.51(1), 47-56. (E)

Bioassay methods with the silkworm, *Bombyx mori* for quality control of *Bacillus thuringiensis* formulations-current method and its modification.

ASANO S. and MIYAMOTO K.

2004 *Jap. J. Applied Entomology and Zoology*, Vol. 48(1), 13-21. (E)

Introduction of ISO-9001 in silkworm seed production.

BENCHAMIN K.V., JAYASWAL J. and GIRIDHAR K.

NSSP, Central Silk Board, BTM Layout , Hosur Road, Madivala, Bangalore-560 068, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(1), 5-6. (E)

Problems and future strategies for mulberry productivity in North India.

DHAR A., KHAN M.A.

CSR & TI, Pampore 192 121, PB n°88, GPO, Srinagar 190 001, Kashmir, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 42(12), 5-7. (E)

Use of Effective Microorganisms in Sericulture.

GANESH KEREMANE, HUGAR I.I., GIRISH B., VANITHA and ASHARANI C.M.

BAIF Institute for Rural Development - Karnataka, Tiptur, India.

2004 *Indian Silk*, Vol.42(10), 9-10. (E)

Studies on the Edibility and Therapeutic Effects of the Silkworm Powder.

GUI Z., DAI J., CHEN J., WANG D., QIAN F., YANG L. and ZHUANG D.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 *Canye Kexue*, *Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 107-110. (e,C)

Induced Systemic Resistance : a new eco-friendly approach for disease management in Mulberry.

GUPTA V.P., RAJAN R.K. and DANDIN S.B.

KSSR & DI, Thalaghattapura, Bangalore, India.

2004 *Indian Silk*, Vol.42(11), 5-6. (E)

Sericulture Industry in Japan - The Changing Trends.

JAYANT JAYASWAL

National Silkworm Seed Project, Bangalore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(11), 26-29. (E)

Sericulture industry in Japan - The changing trends - part-II.

JAYASWAL J.

National Silkworm Seed Project, Bangalore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(12), 27-30. (E)

Mulberry - A Sacred Tree in Kashmir.

KHAN M.A., AHSAN M.M. and ANIL DHAR.

Central Sericultural Research and Training Institute, Pampore, J&K, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(10), 11-13. (E)

Oak tasar in Uttaranchal : towards improving productivity norms.

KIMOTHI R.C.

Research Extension Centre, Gopeshwar, Chamoli, Uttaranchal, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(12), 20-23. (E)

Studies on utilization of double cocoons in seed production in the silkworm, *Bombyx mori* L.

KRISHNA RAO S., RAJENDRA MUNDKURAND and GOVINDARAJU S.T.

Silkworm Breeding Unit, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bidadi-562 109, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 12-15. (E)

Chawki transportation - A study.

MUNIRAJU E., SEKHARAPPA B.M. and RAGHURAMAN.

Karnathka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore-560 062, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 28-31. (E)

Impact of Bivoltine Sericulture Technology Training.

RAHMATHULLA V.K., GEETHA DEVI R.G., VINDYA G.S., SRINIVASA G. *et al.*

CSR & TI, Mysore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(10), 27-29. (E)

Need for international standards for indian raw silk.

SONWALKAR T.N.

CSTRI, Bangalore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(12), 24-26. (E)

Role of Sericultural Germplasm in the Development of Sericulture Industry.

THANGAVELU K.

Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur, Tamil, Nadu, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(10), 5-8. (E)

Fluoride effects on the mulberry-silkworm system.

THE LATE WANG J.-X. and BIAN Y.-M.

Jiangsu Institute of Botany, Nanjing, People's Republic of China.

1988 Environ Pollut., Vol. 52(1), 11-18. (E)

Quality Inspection and Evaluation on Trade Criterion of Hybrid Variety Silkworm Eggs Through Country I. General Quality and Evaluation of Hybrid Variety Silkworm Eggs for Spring Rearing.

WANG P., LI Y., YE X., LI G., CHEN T., SHEN X. and TANG S.

Quality Inspection Center for Sericulture Products, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(1), 95-98. (e,C)

Setting of Grainage for Potential Silkworm Races in Africa.

XU ANYING and LI LONG.

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

2004 Indian Silk, Vol.42(10), 30-32. (E)

Mûrier

Mulberry

***Agrobacterium tumefaciens* mediated genetic transformation and regeneration of *Morus alba* L.**
AGARWAL S., KANWAR K., SAINI N. and JAIN R.K.
2004 *Scientia Horticulturae*, Vol. 100(1/4), 183-191. (E)

Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin-diabetic rats.
ANDALLU B. and VARADACHARYULU N.Ch.
Department of Home Science, Sri Sathya Sai Institute of Higher Learning, Anantapur - 515001, India.
2003 *Clinica Chimica Acta*, Vol. 338, 3-10. (E)

Genetic diversity and relationships in mulberry (genus *Morus*) as revealed by RAPD and ISSR marker assays.
AWASTHI A.K., NAGARAJA G.M., NAIK G.V., KANGINAKUDRU S. et al.
2004 *BMC Genet.*, Vol.5(1),1. (E)

Anthracnose of mulberry (*Morus spp.*) caused by *Colletotrichum dematium* - A new record from India.
CHOWDARY N.B., SHARMA D.D., GOVINDAIAH and NISHITHA NAIK V.
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 57008, India.
2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 57-58. (E)

In-vitro and in-vivo anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from *Morus alba* L.
CHUNG K.O., KIM B.Y., LEE M.H., KIM Y.R., CHUNG H.Y., PARK J.H. and MOON J.O.
2003 *J. Pharmacy and Pharmacology*, Vol.55(12), 1695-1700. (E)

Drying kinetics of white mulberry.
DOYMAZ I.
2004 *J. Food Engineering*, Vol. 61(3), 341-346. (E)

Relationship of Nitrate Reductase Activity to Leaf Yield, Protein, Sugar and Physiological Attributes in Mulberry (*Morus alba* L.).
GHOSH M.K., DAS B.K., DAS C., MISHRA A.K., MUKHERJEE P.K. and RAJE URS S.
Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.
2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 67-71. (E)

Role of bioinoculants in development of salt-resistant saplings of *Morus alba* (var. sujanpuri) in vivo.

KASHYAP S., SHARMA S. and VASUDEVAN P.
2004 *Scientia Horticulturae*, Vol. 100(1/4), 291-307. (E)

Scanning Electron Microscopic Studies on Leaf Surface Trichomes in Mulberry and Its Influence on Rearing Performance of Silkworm *Bombyx mori* L.

KESAVACHARYULU K., VINEET KUMAR, SARKAR A.
Mulberry Breeding and Genetics Lab., Cent.Seric.Res. and Training Inst., Srirampura, Mysore,
570 008 Karbataka, India.
2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 33-41. (E)

Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection.

KIMURA T., NAKAGAWA K., SAITO Y., YAMAGISHI K., SUZUKI M., YAMAKI K. *et al.*
2004 *J. Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52(6), 1415-1418. (E)

Scanning electron microscopy on the perithecial development of *Phyllactinia corylea* on Mulberry - II. Sexual stage.

KUMAR V. and GUPTA V.P.
2004 *J. of Phytopathology*, Vol. 152(3). (E)

Studies on Changes of Ratio of Sugar to Acid in Mulberry Fruits Storage and Influencing Factors.

LI G. and MA Z.
Ningbo Key Laboratory of Agricultural Product Processing Technology, Zhejiang Wanli University,
Ningbo 315100, China.
2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 104-106. (e,C)

Water Management in Mulberry.

MAGADUM S.B., KAMBLE C.K., SINDAGI S.S. and SABITHA.
SSTL, Kodathi, Bangalore, India.
2004 *Indian Silk*, Vol. 42(11), 13-15. (E)

RAPD Analysis of the Mulberry Germplasma Resources in Xinjiang.

MAIMAITI Y., WU L., GUO H., XU Li, LI B. and LU C.
College of Sericulture and Silk, Southwest Agriculture University, Chongqing 400716, China.
2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 76-79. (e,C)

Studies on the seasonal variation of NPK uptake by mulberry (*Morus alba* L.).

MAJUMDER S.K., BOSE P.C., KAR R., BANERJEE N.D. and GHOSH J.K.
Central Sericultural Research and Training Institute, Berhamopore-742 101, India.
2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 1-3. (E)

Mulberry genotypes thriving in sodic soils of Uttar Pradesh.

MOHAN R., CHAKRAVARTI S., SRIVASTAVA V.B., KHAN M.A.
RSRS, Sahaspur, Dehradun, India.
2004 *Indian Silk*, Vol.42(12), 12-16. (E)

Genetic diversity and relationships in mulberry (genus *Morus*) as revealed by RAPD and ISSR marker assays.

NAGARAJU J.
Seribiotech Research Laboratory, Central Silk Board, CSB Complex, Kodathi, Carmelram post,
Bangalore - 560035, India.
2004 *Bio Med Central Genetics*, Vol. 5(1), 1471-2156. (E)

Mulberry Diseases - Biocontrol Potentialities.

PADMA S.D. and SUKUMAR J.

KSSR & DI, Thalaghattapura, Bangalore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(11), 7-9. (E)

Dryland Mulberry Technology for Drought Ridden Areas of Bijapur.

PRAKASH B.G. and HALASWAMY K.M.

Regional Agricultural Research Station (University of Agricultural Sciences, Dharwad), Bijapur, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(11), 11-12. (E)

Occurrence of spittle-bug in Mulberry.

RAJDURAI

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.

2004 Indian Silk, Vol.42(12), 15-16. (E)

Evaluation of improved mulberry genotypes based on leaf yield, quality and bioassay using silkworm race, PM x NB4D2.

SANTOSHAGOUDA V.PATIL, DANDIN S.B. and MALLIKARJUNAPPA.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore - 560 062, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 61-62. (E)

Sampling, Surveillance and Forecasting of Insect Population for Integrated Pest Management in Sericulture.

SINGH R.N., MAHESHWARI M., SARATCHANDRA B.

Central Silk Board, B. T. M. Lay out, Madivala, Bangalore, 560 068 India.

2004 Int. J. Indust. Entomol., Vol.8(1), 17-26. (E)

National Disorders, Analytical Diagnosis and Nutrient Guide for Mulberry, *Morus indica* L.

SINGHAL B.K., CHAKRABORTI S., V.RAJAN M., THIPPESWAMY T.

Regional Sericultural Research Station, Miran Sahib, Jammu-181 101, Jammu and Kashmir, India.

2004 Int. J. Indust. Entomol., Vol.8(1), 1-15. (E)

Record of *Oxyrachis tarandus* (FB) on mulberry in Andhra Pradesh.

SUNIL MISRA, RAJA GOPAL REDDY C., SIVAPRASAD V., *et al.*

Andhra Pradesh State Sericulture Research and Development Institute, Kirikera- 515 211, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 66. (E)

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

SUZUKI T., KITANO M. and KOHNO K.

1988 Tree Physiol., Vol.4(1), 53-60. (E)

In vitro modification of sex expression in mulberry (*Morus alba*) by ethrel and silver nitrate.

THOMAS T.D.

2004 Plant Cell Tissue and Organ Culture, Vol. 77(3), 277-281. (E)

Biochemical changes due to infection of *Phyllactinia corylea* in the leaves of certain mulberry varieties.

VIDYASAGAR G.M. and KOTRESHA D.

Department of P.G. Studies and Research in Botany, Gulbarga University, Gulbarga - 585 106, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 71-74. (E)

Genetic relationships of Japanese and Indian mulberry (*Morus spp.*) genotypes revealed by DNA fingerprinting.

VIJAYAN K.

2004 *Plant Systematics and Evolution*, Vol. 243(3/4), 221-232. (E)

Chalcone dimethylallyltransferase from *Morus nigra* cell cultures. Substrate specificity studies.

VITALI A., GIARDINA B., DELLE MONACHE G., ROCCA F., SILVESTRINI A. *et al.*

Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare, Sezione di Roma, 00168 Rome, Italy.

2004 *FEBS Lett.*, Vol.557(1-3), 33-8. (E)

Investigation of Mulberry Germplasm Resources in Heilongjiang Province.

WANG J., REN S., WANG D., CHEN L., LI Z., DONG H., LIU Z. and AN M.

The Sericultural Research Institute of Heilongjiang, Haerbin 1500086, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 73-75. (e,C)

The Occurrence Law and Control Technique of Mulberry Gall-Midge (*Diplosis mori* Yokoyama).

XIA Z.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018 China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 15-19. (e,C)

In planta transformation of mulberry trees (*Morus alba* L.) by *Agrobacterium tumefaciens*.

XIAO PING L., NOGAWA M., SHIOIRI H., NOZUE M., MAKITA N., TAKEDA M. *et al.*

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1 Tokida Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol.72(3), 177-184. (E)

Introduction of Tetraploidy and its Application in Mulberry, *Morus spp.*

YANG J.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 6-10. (e,C)

Alpha-glucosidase inhibitory activity in leaves of some mulberry varieties.

YATSUNAMI K., SAITO Y., FUKUDA E., ONODERA S. and OSHIGANE K.

2003 *Food Science and Technology Research*, Vol. 9(4), 392-394. (E)

Research on Application of Mulberry Fruit Red Pigment on the Silk Fabrics.

YU Z.

Zhejiang Institute of Science and Technology, Hangzhou 310012, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 59-63. (e,C)

Phylogenetic Relationship of Genus *Morus* by ITS Sequence Data.

ZHAO W., PAN Y. and ZHANG Z.

The Sericultural Institute Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018 China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 11-14. (e,C)

Bombyx mori : élevage, nutrition, pathologie

Bombyx mori : rearing, feeding, pathology

Administration of plant growth hormone, indole-3-acetic acid on growth and economic characters of silkworm, *Bombyx mori* L.

BHARATHI D. and MIAO Y.

2003 *J. Advanced Zoology*, Vol. 24(1/2), 1-7. (E)

Post-Cocoon mortality and its management.

CHANDRASEKHARAN K., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S.D. *et al.*

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(1), 10-12. (E)

The Effects of Vitamin C on Biological, Biochemical and Economical Characteristics of the Silkworm, *Bombyx mori* L.

ETEBARI K., EBADI R., MATINDOOST L.

Dept. of Sericulture, College of Natural Resources, University of Guilan, Somehe Sara 1144, Iran.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 81-87. (E)

Effect of thyroxine on food utilization by silkworm, *Bombyx mori* L.

HEMAVATHI B. and BHARATHI D.

Department of Sericulture, S.P.M.V.V., Tirupati-517 501, India. BIOTRIM, Tirupati - 517 501, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 16-20. (E)

Stochastic models for the direction of silkworm body during cocoon construction.

KAISE T., MIURA M., MORIKAWA H. and IWASA M.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericulture*, Vol.72(3), 171-175. (E)

Simple manipulation of silkworm molting by an artificial diet containing plant-derived 20-hydroxyecdysone.

KAMIMURA M., SHIMURA S. and KIUCHI M.

Developmental Biology Department, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericulture*, Vol.72(3), 197-201. (E)

Effect of phytoecdysteroid on maturation of silkworm, *Bombyx mori* L.

KANIKA TRIVEDI, SASHINDRAN NAIR K., RAMESH M., NISHA GOPAL and NIRMAL KUMAR S.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 75-77. (E)

Surface ultrastructural studies on the germination penetration and conidial development of *Aspergillus flavus* Link : Fries infecting silkworm, *Bombyx mori* Linn.

KUMAR V., SINGH G.P. and BABU A.M.

2004 *Mycopathologia*, Vol. 157(1), 127-135. (E)

Feeding toxicity of Spinosad 48SC to silkworm, *Bombyx mori* L.

MATHIRAJAN V.G. and RAGURAMAN S.

Department of Agricultural Entomology, Agricultural College and Research Institute, Madurai-625 104, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 9-11. (E)

Anti juvenoid mediated alterations in growth and economic traits of silkworm, *Bombyx mori* L.

MIAO YUNGEN and SASHINDRAN NAIR K.

Department of Sericulture and Apiculture, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou - 310 029, China.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 78-81. (E)

Growth of *Bombyx mori* under a reduced atmospheric pressure.

NAKAYAMA S., FUJII S. and YAMAMOTO R.

2002 *Uch seibutsu kagaku [Biol. Sci. Space]*, Vol. 16(3), 211-212.

Effect of sub-lethal dosage of insecticides on biological attributes of the silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae).

NASEEMA BEGUM A. and SHIVANANDAPPA T.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.12(1), 50-56. (E)

Development of an automated warehouse type silkworm rearing system for the production of useful materials.

OHURA M.

Lab. of Mass Prod. System, National Institute of Agrobiological Sciences, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol.72(3), 163-169. (E)

Determining optimum sample size for measuring body weight of silkworm, *Bombyx mori*.

OHURA M., LI M. and McCLURE W.F.

2003 *Applied Engineering in Agriculture*, Vol. 19(6), 737-741. (E)

Stability analysis in bivoltine silkworm breeds for robustness at different temperature and humidity conditions.

PALIT A.K., SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K., MAL REDDY N. and KALPANA G.V.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 46-49. (E)

Discussion about Increasing the Group Size of Pebrine Mother Moths Sampling Inspection in the Silkworm.

PAN S., TAO M., LI Z., PENG H. and QI L.

Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*; Vol. 30(1), 64-68. (e,C)

Identification of Superior Polyvoltine Hybrids (polyvoltine x bivoltine) of Silkworm, *Bombyx mori* L.

RAO C.G.P., CHANDRASHEKHARAI AH, IBRAHIM BASHA K., SESHAGIRI S.V., RAMESH *et al.*

Andhra Pradesh State Sericulture Research & Develop. Instit., Kirikera, Hindupur - 515 211, Andhra Pradesh, India.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 43-49. (E)

Relationship between the susceptibility of silkworm, *Bombyx mori* to denonucleosis and infectious flacherie virus infection.

RATNA SEN, NATARAJU B., SELVAKUMAR T., CHANDRASEKHARAN K and THIAGARAJAN V.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 59-60. (E)

Implications of high temperature and low humidity on cocoon economic traits in the silkworm, *Bombyx mori* L.

REDDY P.L.N., NAIK S.S., RAO M.S. and REDDY N.S.

2003 *J. Advanced Zoology*, Vol. 24(1/2), 34-40. (E)

***In vitro* screening of antibiotics against *Bacillus coagulans*.**

SAVITHRI G. and MURALI MOHAN P.

Department of Sericulture, Sri Padmavati Mahila Visvavidyalayam, Tirupati-517 502, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 25-27. (E)

Pathogenicity of the bacterium *Bacillus coagulans* in silkworm, *Bombyx mori* L.

SAVITHRI G. and MURALI MOHAN P.

Department of Sericulture, Sri Padmavati Mahila Visvavidyalayam, Tirupati-517 502, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 4-8. (E)

Studies on growth of young age silkworms fed on semi-synthetic diet.

SHANTHALA R., MAGADUM S.B., SHIVASHANKAR, KAMBLE C.K. and DANDIN S.B.

Regional Sericultural Research Station, Carmelram post, Bangalore-560 035, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol.42(1), 21-24. (E)

The automatic collection machine of matured silkworm larvae increases efficiency of mounting operations at farmer's place.

SHIROTA T.

Institute of Seliculture, 1053 Ikura, Ami-machi, Ibaraki-ken, 300-0324, Japan.

2003 *Journal of Dainippon Silk Foundation*, N 51, 23-29. (J)

Delayed mother moth testing for effective detection of pebrine.

SINGH R.N., SANTHA P.C., SASIDHARAN T.O., MANJULA A. and KAMBLE C.K.

CSGRC, Central Silk Board, Govt. of India, P.B. N 44, Thally Road, Hosur - 635 109, Tamil Nadu, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(1), 7-9. (E)

Evolution of a Productive Bivoltine Hybrid of Silkworm *Bombyx mori* L. (SD7 x SD12) with Shorter Larval Duration

SUDHAKARA RAO P., BASAVARAJA H.K., KALPANA G.V., NISHITHA NAIK V., *et al.*

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

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 27-32. (E)

Line x Tester Analysis of Certain Quantitative Traits in Silkworm *Bombyx mori* L. under Optimum and Stress Rearing Conditions.

SUDHAKARA RAO P., DATTA R.K., VIJAYA KUMARI K.M., PALIT A.K., and BHAT S.A.
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 570 008, India.
2004 Int. J. Indust. Entomol., Vol.8(1), 107-112. (E)

Effect of high temperature and high humidity on the cocoon shape and size of parents, foundation crosses, single and double hybrids of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L.

SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K., KALPANA G.V., MAL REDDY N., DANDIN S.B.
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570 008, India.
2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 35-40. (E)

Evaluation of bivoltine breeds and hybrids as male components with Pure Mysore under different temperature and humidity conditions.

SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K., KALPANA G.V., MAL REDDY N. *et al.*
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570 008, India.
2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 41-45. (E)

Analysis of the Distribution of the Moths Carrying Pebrine in the Silkworm Between Different Seed Production's Days.

TAO M., PAN S., QI L., PAN L. and PENG H.
Jiangsu Silkworm Eggs Corporation, Wuxi 214023, China.
2004 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(1), 99-103. (e,C)

Influence of relative humidity on the nutritive potential of mulberry silkworm (*Bombyx mori* Lin.) larvae.

UPADHYAY V.B. and MISHRA A.B.
2002 J. Advanced Zoology, Vol. 23(1), 54-58. (E)

The Improved-sampling Plan about the Pebrine Collective Inspection of *Bombyx mori* Eggs.

WANG L. and XU S.
Applied Mathematics Department, University of Science and Technology of Suzhou, Suzhou 215011, China.
2004 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(1), 69-72. (e,C)

Fluoride effects on the mulberry-silkworm system.

WANG T.L. and BIAN Y.-M.
Jiangsu Institute of Botany, Nanjing, People's Republic of China.
1988 Environ. Pollut., Vol. 52(1). (E)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Chlorpyrifos (pyriban) to prevent ant attack in tasar.

ALAM M.O., RATH P.C., MISHRA D. and SATPATHY S.
BTSSO - BSMTC, P.O. Kerai, District Sundargarh, Orissa, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(1), 16. (E)

ISSR profiling of genetic variability in the ecotypes of *Antheraea mylitta* Drury, the tropical Tasar silkworm.

CHATTERJEE S.N., VIJAYAN K., ROY G.C. and NAIR C.V.
SeriBiotech Laboratory, Central Silk Board, Kodathi Campus, Sarjapur Road, Carmelram, Bangalore 560035, Karnataka, India
2004 Genetika, Vol. 40(2), 210-217. (E)

Temporal and spatial effect on muga silk production in Assam.

KAKATI L.N.
Nagaland University, Mokokchung, India.
2004 Indian silk, Vol. 43(1), 13-16. (E)

Incidence of Aphid of Som.

KALITA P. and KHOOND J.N.
Krishi Vigyan Kendra, Diphu, India.
2004 Indian Silk, Vol.42(10), 14-15. (E)

Physico-chemical characteristics of soils in different ecopockets of tasar host plants in Bastar (Chattisgarh).

MAHOBIA G.P., PANDE V.K. and SINHA B.R.R.P.
Regional Tasar Research Station, Jagdalpur - 494 005, India.
2003 Indian Journal of Sericulture, Vol.42(1), 63-65. (E)

Cashew : another food plant for tropical tasar silkworm.

PRASAD B.C., RATH S.S., NAGENDRA S. and SINHA B.R.R.P.
Regional Tasar Research Station, Dumka, Jharkhand, India. CTR&TI, Piska-Nagri, Ranchi, Jharkhand, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(1), 17-18. (E)

Integrated Package for Tasar Seed Cocoon Production and Preservation.

RAJ NARAIN, RATH S.S., PRASAD B.C., ALAM M.O., RATH P.C., MISHRA D. et al.
ZSSPO, Majra, Dehradun, Uttaranchal, India.
2004 Indian Silk, Vol.42(11), 17-20. (E)

Failure of cocoon spinning and pupal moulting in space deprived larvae of tasar silk moth, *Antheraea mylitta* D.

TIWARI R.K., AGRAWAL D.P. and CHAUBEY A.K.

2002 *J. Advanced Zoology*, Vol. 23(1), 30-33. (E)

Vers à soie : génétique

Silkworms : genetics

A genomic BAC library and a new BAC-GFP vector to study the holocentric pest *Spodoptera frugiperda*.

ALENCON E. D., PIFFANELLI P., VOLKOFF A.N., SABAU X., GIMENEZ S., *et al.*

Labo. de patho. comparee, INRA UMR 1231, CNRS FRE 2689, Univ. Montpellier II, 30380 Saint Christol-les-Ales, France.

2004 *Insect Biochem Mol. Biol.*, Vol. 34(4), 331-341. (E)

M chromosome of the wild silkworm, *Bombyx mandarina* (n=27), corresponds to two chromosomes in the domesticated silkworm, *Bombyx mori* (n=28).

BANNO Y., NAKAMURA T., NAGASHIMA E., FUJII H. and DOIRA H.

Institute of Genetic Resources, Kyushu University G.S. of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Fukuoka, Japan.

2004 *Genome*, Vol. 47(1), 96-101. (E)

cDNA cloning and expression of bacteria-induced Hdd11 gene from eri-silkworm, *Samia cynthia ricini*.

BAO Y., MEGA K., YAMANO Y. and MORISHIMA I.

Department of Biochemistry and Biotechnology, Tottori University, Koyama, Tottori 680-8553, Japan.

2003 *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol Pharmacol.*, Vol. 136(4), 337-342. (E)

Molecular markers (RAPD) associated with growth, yield, and origin of the silkworm, *Bombyx mori* L. in India.

CHATTERJEE S.N. and PRADEEP A.R.

2003 *Russian J. Genetics*, Vol.39(12), 1365-1377. (E)

Molecular Characterization of the Cytochrome Oxydase Subunit II Gene of Mitochondrial DNA From the Eri Silkworm *Samia cynthia ricini*.

CHEN F., WEI Z., LI Q., BAO X. and WANG T.

Sericultural Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230061, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 38-43. (e,C)

A constitutive super-enhancer ; homologous region 3' of *Bombyx mori* n ucleopolyhedrovirus.

CHEN Y., YAO B., ZHU Z., YI Y., LIN X., ZHANG Z. and SHEN G.

Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China.

2004 *Biochem Biophys Res Commun*, Vol. 318(4), 1039-1044. (E)

Mining single nucleotide polymorphisms from EST data of silkworm, *Bombyx mori*, inbred strain Dazao.

CHENG T.C., XIA Q.Y., QIAN J.F., LIU C., LIN Y., ZHA X.F. and XIANG Z.H.

The Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

Insect Biochem Mol Biol., Vol. 34(6), 523-530. (E)

Broad patterns of speciation are correlated with the evolution of new silk proteins in spiders but not in the lepidoptera.

CRAIG C.L.

Museum of Cooperative Zoology, 26 Oxford Street, Harvard University, Cambridge, Massachusetts 02138, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 739-743. (E)

The genetics and genomics of insecticide resistance.

FFRENCH-CONSTANT R.H., DABORN P.J. and LE GOFF G.

Department of Biology and Biochemistry, University of Bath BA2 7AY, UK.

2004 Trends Genet., Vol. 20(3), 163-170. (E)

De novo gene expression and antisense inhibition in cultured cells of BmTRN-1, cloned from the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*, which is homologous with mammalian TIA-1/R.

FURUSAWA T. and al.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Sakyo 606-0962, Japan.

2003 GENE, Vol. 320, 67-79. (E)

Introduction of Foreign Genes into Silkworm Eggs by Electroporation and Its Application in Transgenic Vector Test.

GUO X-Y., DONG L., WANG S-P., GUO T-Q., WANG J-Y. and LU C-D.

2004 Acta Biochimica et Biophysica Sinica, Vol. 36(5), 323-330. (E)

Molecular Cloning of a cDNA Encoding Putative Apolipoprotein III from the Silkworm, *Bombyx mori*.

HEUN YOUNG YUN, TAE WON GOO, SUNG WAN KIM, JAE SAM HWANG, KWANG HO CHOI, et al.

Dep. of Seric. and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea.

2004 Int. J. Indust. Entomol., Vol. 7(2), 145-149. (E)

Silkworm Genome Sequencing and Prospect.

HUANG J.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(1), 1-5. (e,C)

Targeted gene expression using the GAL4/UAS system in the silkworm *Bombyx mori*.

INAMURA M., NAKAI J., INOUE S., QUAN G.X., KANTA T. and TAMURA T.

2003 Genetics, Vol. 165(3), 1329-1340. (E)

Inhibition of Apoptosis by a *Bombyx mori* Gene.

KIM E.J., RHEE W.J. and PARK T.H.

School of Chemical Engineering, Seoul National University, Kwanak-Gu Shilim-Dong San 56-1, Seoul 151-744, Korea.

2004 Biotechnol. Prog., Vol. 20(1), 324-9. (E)

Analysis of Segment Sequences and Molecular Evolution between *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina* Using Mitochondrial Cyt b Gene.

LI A., XU A., SHEN X., TANG S., ZHANG Z. and PAN S.

Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Science, Zhenjiang 212018, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 80-84. (e,C)

The expression of GFP under the control of fibroin promotor in primary ovarian cells of *Antheraea pernyi*.

LI W.L., JIN L.J., BU P.C. and AN L.J.

2003 *J. Biosciences*, Vol. 28(6), 691-695. (E)

Estimation of Gene Effects in Four Bivoltine Silkworm (*Bombyx mori* L.) Crosses.

MALIK G.N., SINGH T.P., HAQUE RUFIAIE S.Z., AIJAZ M. and DAR, H.U.

Div. of Seric., Sheri-Kashmir Univ. of Agric. Sc. and Techn. of Kashmir, Post Box 674, G.P.O., Srinagar 190001, India.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 8(1), 113-115. (E)

Sequence variability in the fibroin-H intron of domesticated and wild silk moths.

MARTINEZ L., ALMAGRO J.C., COLL J.L. and HERRERA R.J.

Department of Biological Sciences, Florida International University Park, OE 304, Miami, FL 33199, USA.

2004 *Insect Biochem Mol. Biol.*, Vol. 34(4), 343-352. (E)

The Genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*.

MITA K., KAZAHARA M., SASAKI S., NAGAYASU Y., YAMADA T., KANAMORI H. et al.

Genome Research Department, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2004 *DNA Res.*, Vol. 11(1), 27-35. (E)

The construction of an EST database for *Bombyx mori* and its application.

MITA K., MORMYO M., OKANO K., KOIKE Y., NOHATA J., KAWASAKI H. et al.

Laboratory of Insect Genome, National Institute of Agrobiological Sciences, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan

2003 *European Molecular Biology Laboratory*, Vol. 100(24), 14121-14126. (E)

A comparative phylogenetic analysis of full-length mariner elements isolated from the Indian tasar silkworm *Antheraea mylitta* (Lepidoptera : Saturniidae).

PRASAD M.D. and NAGARAJU J.

2003 *J. of Biosciences*, Vol. 28(4), 443-453. (E)

Baculovirus-mediated efficient gene transfer into the central nervous systems of the silkworm, *Bombyx mori*.

SHIOMI K., KAJIURA Z., NAKAGAKI M. and YAMASHITA O.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72(3), 149-155. (E)

A novel method, PCR-mediated amplification of methylated sites, detects methylated CpG islands in the genome of *Bombyx mori*.

TATEMATSU K.I., HIROKAWA M. and KOSEGAWA E.

National Institute of Agrobiological Sciences, 6585 Kobuchisawa, Kita-Koma, Yamanashi 408-0044, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72(3), 191-195. (E)

Bombyx mori's Female-specific Marker Screening, Cloning and the Sequence Analysis.

WANG H. and ZHU Y.

College of Sericulture and Biotechnology of Southwest Agricultural University,
Chongqing 400716, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 34-37. (e,C)

Targeting of human aFGF gene into silkworm, *Bombyx mori* L. through homologous recombination.

WU X.F. and CAO C.P.

Lab of Gene Engineering, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029,
China.

2004 *J. Zhejiang Univ Sci*, Vol. 5(6), 644-650. (E)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Modular organization of the silkmoth antennal lobe macroglomerular complex revealed by voltage-sensitive dye imaging.

AI H. and KANZAKI R.

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan.

2004 *J. Exp. Biol.*, Vol.207(Pt 4), 663-44. (E)

Silkworm assay for *Bacillus thuringiensis* formulations using the diet incorporation method : (2) evaluation based on larval growth reduction.

ASANO S.

2003 *Japanese J. Applied Entomology and Zoology*, Vol.47(4), 129-135. (E)

Distribution of cuticular protein mRNAs in silk moth integument and imaginal discs.

GU S. and WILLIS J.H.

Department of Cellular Biology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA.

2003 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 33, 1177-1188. (E)

Production and application of rabbit anti-imitative spider dragline silk protein polyclonal antibody.

GUO T.Q., ZHAO Y., WANG S.P., DONG L. and LU C.D.

2003 *Sheng wu hua xue yu sheng wu wu li xue bao* [=Acta Biochimica et Biophysica Sinica], Vol. 35(8), 756-760. (E)

Amyloid fibrillogenesis of silkmoth chorion protein peptide-analogues via a liquid-crystalline intermediate phase.

HAMODRAKAS S.J., HOENGER A. and ICONOMIDOU V.A.

2004 *J. Structural Biology*, Vol. 145(3), 226-235. (E)

In Vivo and Vitro Interactions of the *Bombyx mori* Chymotrypsin Inhibitor b1 with *Escherichia coli*.

HE N., ASO Y., FUJII H., BANNO Y. and YAMAMOTO K.

Laboratories of Insect Genetic Resources, Faculty of Agriculture, Kyushu University.

2004 *Biosci Biotechnol Biochem*, Vol. 68(4), 835-840. (E)

Expression of a human ribonuclease inhibitor variant in *Escherichia coli* and silkworm insect cell (*Bombyx mori*).

HUANG G.H., YANG G.Z., CHEN J.Y. and WU X.F.

2003 *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Li Xue Bao* [=Acta Biochimica et Biophysica Sinica](Shanghai), Vol. 35(10), 960-963. (E)

Potentiality of Oligodeoxynucleotides as An Inducer for Antifungal Peptide in Two Lepidopteran Insects, *Bombyx mori* and *Galleria mellonella*.

IKSOO KIM, YOUNG SHIN LEE, KWANG SILK LEE, SO YOUNG CHA, PIL DON KANG, *et al.*

Dep. of Agric. Biology, The Nat.Instit. of Agric. Science and Techn,Rural Development Adm., Suwon 441-100, Korea.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 95-99. (E)

Monoamine levels in the central nervous system and haemolymph during 5th instar of the silkworm *Bombyx mori* L.

JOSTHNA P. and MOHAN P.M.

2002 *J. Advanced Zoology*, Vol. 23(1), 17-22. (E)

Immune stimulation in the silkworm, *Bombyx mori* L., by CpG oligodeoxynucleotides.

KIM I., KIM S.H., LEE Y.S., YUN E.K., LEE H.S., KIM J.W., RYU K.S. *et al.*

2003 *Archives Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 55(1), 43-48. (E)

Commencement of pupal commitment in late penultimate instar and its hormonal control in wing imaginal discs of the silkworm, *Bombyx mori*.

KOYAMA T., OBARA Y., IWAMI M. and SAKURAI S.

2004 *J. Insect Physiol.*, Vol. 50(2/3), 123-133. (E)

Purification, cDNA cloning and expression of an insect defensin from the great wax moth, *Galleria mellonella*.

LEE Y.S., YUN E.K., JANG W.S. *et al.*

Department of Life Science, Hoseo University, South Korea.

2004 *Insect Mol. Biol.*, Vol.13(1), 65-72. (E)

Silkworm-pheophorbide a mediated photodynamic therapy against B16F10 pigmented melanoma.

LIM D.S., KO S.H. and LEE W.Y.

2004 *J. Photochemistry and Photobiology, B : Biology*, Vol. 74(1), 1-6. (E)

Classification of larval circulating hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*, by acridine orange and propidium iodide staining.

LING E., SHIRAI K., KANEKATSU R. and KIGUCHI K.

Depart. of Applied Biology, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda, 386-8567, Nagano, Japan

2003 *Histochem Cell Biol.*, Vol. 120, 505-511. (E)

Water-soluble protein and free amino acid (FAA) profiles of the haemolymph of the larva of *Eri* Silkworm, *Philosamia ricini* Hutt., in relation to the presence of proteins of such nature and FAA in the diets fed by these caterpillars.

MANI H.C., SINGH B.K. and CHAKRAVORTY R.

2002 *J. Advanced Zoology*, Vol. 23(2), 85-87. (E)

***In vitro* and *in vivo* evaluation of recombinant silk-elastinlike hydrogels for cancer gene therapy.**

MEGEED Z., HAIDER M., LI D.Q., O'MALLEY B.W., CAPPELLO J. and GHANDEHARI H.

2004 *J. Controlled Release*, Vol. 94(2/3), 433-445. (E)

Analysis of extrachromosomal homologous recombination in cultured silkworm cells.

MON H., KUSAKABE T., BANDO H., KOJIMA K., KAWAGUCHI Y. and KOGA K.

Kyushu University Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences,
6-10-1 Hakozaki, Fukuoka 812-8581, Japan

2003 Biochemical and Biophysical Research Communication, Vol. 312, 684-690. (E)

Physiological differentiation of DH-PBAN-producing neurosecretory cells in the silkworm embryo.

MORITA A., NIIMI T. and YAMASHITA O.

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, 464-8601, Chikusa Nagoya, Japan.

2003 Journal of Insect Physiology, Vol. 49, 1093-1102. (E)

Antiviral activity of a serine protease from the digestive juice of *Bombyx mori* larvae against nucleopolyhedrovirus.

NAKAZAWA H., TSUNEISHI E., PONNUVEL K.M., FURUKAWA S., ASAOKA A. *et al*

2004 Virology, Vol. 321(1), 154-162. (E)

Spontaneous synthesis of an antibacterial peptide linked to ecdysis in lepidopteran insects.

NAKAZAWA H., YUKUHIRO F., FURAKAWA S., SAGISAKA A., TANAKA H. *et al.*

Immature Immunity Laboratory, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki
305-8634, Japan.

2003 Journal of Insect Biotechnology and Sericulture, Vol. 72(3), 133-137. (E)

Separation, purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory silk fibroin peptide.

NI L., TAO G.J., DAI J., WANG Z. and XU S.Y.

2001 Se-Pu [Chinese J. Chromatography Zhongguo hua xue hui], Vol. 19(3), 222-225.

Pheromone-binding proteins contribute to the activation of olfactory receptor neurons in the silkworms *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*.

POPHOF B.

2004 Chemical Senses, Vol. 29(2), 117-125. (E)

Clinical effectiveness of a silk fabric in the treatment of atopic dermatitis.

RICCI G., PATRIZI A., BENDANDI B., MENNA G., VAROTTI E. and MASI M.

Department of Paediatrics University of Bologna, Via Massarenti 11, 40138 Bologna, Italy.

2004 Br J. Dermatol., Vol. 150(1), 127-31. (E)

Roles of actin networks in peristaltic squeezing of sperm bundles in *Bombyx mori*.

SAHARA K. and KAWAMURA N.

2004 J. Morphology, Vol. 259(1), 1-6. (E)

Effects of bombyxin-II, an insulin-related peptide of insects, on *Bombyx mori* hemocyte division in single-cell culture.

SAITO T. and IWABUCHI K.

2003 Applied Entomology and Zoology, Vol. 38(4), 583-588. (E)

Studies on bio-energetics of Tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. during diapause.

SATAPATHY S.

Basic Seed Multiplication and Training Centre, Central Silk Board, Kerai, Sundergarh, Orissa, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(1), 32-34. (E)

The Gene Expression Profile of the Fat-body of Silkworm, *Bombyx mori* I. Gene Expression Profile of the Fat-body of the 5th Instar *Bombyx mori* Larvae.

SHEN Y., CHENG D., ZHA X., XIA Q. and XIANG Z.

The Key Sericulture Laboratory of Agricultural Ministry, Chongqing 400716, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 24-27. (e.C)

Sex determination mechanism in the silkworm, *Bombyx mori*, compared with that in *Drosophila*.

SHIMADA T.

2004 *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, Vol. 49(2), 108-115. (E)

Analysis of molecular mechanism regulating spatio-temporal localization and activity of protein kinase C and diacylglycerol kinase using live imaging.

SHIRAI Y.

2004 *Nippon Yakurigaku Zasshi*, Vol.123(3), 189-96. (E)

Isoelectric Focusing of the Hemolymph Proteins of the Silkworm, *Bombyx mori*.

STAYKOVA T., POPOV P., GRECOV D. and TERZIEVA P.

Department of Genetics, Plovdiv University, Tzar Assen Str. 24, 4000 Plovdiv, Bulgaria.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 117-121. (E)

Entry of *Bombyx mori* cypovirus I into midgut cells in vivo.

TAN Y.R., SUN J.C., LU X.Y., SU D.M. and ZHANG J.Q.

2003 *J. Electron Microscopy*, Vol. 52(5), 485-489. (E)

Functional analysis of the larval serum protein gene promoter from silkworm, *Bombyx mori*.

TANG S.M., YI Y.Z., SHEN X.J., ZHANG Z.F., LI Y.R. and HE J.L.

2003 *Chinese Science Bulletin*, Vol. 48(23), 2611-2615.

Characterization of the carotenoid-binding protein of the Y-gene dominant mutants of *Bombyx mori*.

TSUCHIDA K., JOUNI Z.E., GARDETTO J., KOBAYASHI Y., TABUNOKI H., AZUMA M. *et al.*

Radiological Protection, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

2004 *Journal of Insect. Physiol.*, Vol. 50(4), 363-372. (E)

Specific binding of silkworm *Bombyx mori* 30-kDa lipoproteins to carbohydrates containing glucose.

UJITA M., KIMURA A., NISHINO D., YOKOYAMA E., BANNO Y., FUJII H. and HARA A.

2002 *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, Vol. 66(10), 2264-2266. (E)

Growth of human cells on a non-woven silk fibroin net : a potential for use in tissue engineering.

UNGER R.E., WOLF M., PETERS K., MOTTA A., MIGLIARESI C. and KIRKPATRICK C.J.

2004 *Biomaterials*, Vol. 25(6), 1069-1075.

Biochemical effects of neural factors in the metamorphosing silkworm, *Bombyx mori* L.

VARALAKSHMI Y. and MOHAN P.M.

2002 *J. Advanced Zoology*, Vol. 23(2), 92-96. (E)

Effect of Silkworm Powder Compound on Mouse's Several Physiological Indexes.

XIAO H., SHI X., LUO C. and CUI W.

Sericultural Department, Shandong Agriculture University, Taian 271018, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 111-114. (e.C)

The difference in alpha-glucosidase inhibitory activities among several strains of the silkworm, *Bombyx mori*.

YATSUNAMI K., AKIMOTO Y., FUKUDA E., YOKOYAMA T. and OSHIKI T.

The Japanese Society of Sericultural Science, c/o NIAS, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 72(3), 93-96. (J)

Ultrastructural studies on the pheromone-producing cells in the silkworm, *Bombyx mori* : Formation of cytoplasmic lipid droplets before adult eclosion.

YOKOYAMA N., FONAGY A., TATSUKI S., ARIE T., YAMASHITA S. and MATSUMOTO S.

2003 *Acta Biologica Hungarica*, Vol. 54(3/4), 299-311. (E)

Effects on the antibacterial peptide cecropins from Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi* on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats.

ZANG W.M., LAI Z.S., HE M.R., XU G., HUANG W. and ZHOU D.Y.

2003 *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, Vol. 23(10), 1066-1068. (E)

Identification of a POU factor involved in regulating the neuron-specific expression of the gene encoding diapause hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide in *Bombyx mori*.

ZHANG T.Y., KANG L., ZHANG Z.F. and XU W.H.

2004 *Biochem. J.*, Pt.

Sudy on the Development of the Silkworm Wing Discs.

ZHOU Q., YI Y., ZHANG Z., CHEN Y, HE J. and LÜ H.

Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 44-49. (e,C)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms : eggs, embryology

Investigation of the coldstorage after the acid-treatment on chilling Silkworm eggs.

ASOH T. and JYORAKU C.

Institute of Seliculture, 1053 Iikura, Ami-machi, Ibaraki-ken, 300-0324, Japan.

2003 *Journal of Dainippon Silk Foundation*, N 51, 31-38. (J)

Amyloid fibrillogenesis of silkworm chorion protein peptide-analogues via a liquid-crystalline intermediate phase.

HAMODRAKAS S.J., HOENGER A. and ICONOMIDOU V.A.

2004 *J. Struct. Biol.*, Vol.145(3), 226-35. (E)

Influence of Chilling Duration on Oxygen Consumption and Hatchability in Eggs of the Silkworm, *Bombyx mori*.

HYUNG JOO YOON, SAM EUN KIM, JONG GILL KIM and JI YOUNG CHOI.

The National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea.

2004 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol.8(1), 73-76. (E)

The ecdysone regulatory cascade and ovarian development in lepidopteran insects : insights from the silkworm paradigm.

SWEVERS L. and IATROU K.

2003 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 33(12), 1285-1297. (E)

Changes of Esterase a4-activity in Hot Water Treated Eggs of Silkworm, *Bombyx mori*.

XU S., SIMA Y., CHEN X. and DAI X.

School of Agriculture Science and Technology, Soochow University, Suzhou 215006, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(1), 50-54. (e,C)

Establishment of 2D-PAGE Protein Patterns of Silkworm Embryo During Incubating Stage.

YAN X., ZHONG B., CAO J., XU M., SHEN F. and YAO G.

Lab. of Molecular Biology of Silkworm and Honeybee, College of Animal Science, Zhejiang Univ., Hangzhou 310029, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol.30(1), 28-33. (e,C)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Fibroin silk proteins from the nonmulberry silkworm *Philosamia ricini* are biochemically and immunochemically distinct from those of the mulberry silkworm *Bombyx mori*.

AHMAD R., KAMRA A. and HASNAIN S.E.

Laboratory of Eukaryotic Gene Expression, National Inst. of Immunology, Aruna Asaf Ali Marg, New Delhi 110 067, India.

2004 Cell Bio., Vol. 23(3), 149-154. (E)

Spider webs and silks : Tracing evolution from molecules to genes to phenotypes.

CRAIG C.L.

2003 Oxford Univ. Press., 256p.

Assembly of the silk fibroin elementary unit in endoplasmic reticulum and a role of L-chain for protection of alpha 1.2-mannose residues in N-linked oligosaccharide chains of fibrohexamerin/P25.

INOUE S., TANAKA K., TANAKA H., OHTOMO K., KANDA T., INAMURA M., QUAN G.X. *et al.*

2004 Eur. J. Biochem., Vol. 271(2), 356-366. (E)

Studies on middle silk gland proteins of cocoon colour sex-limited silkworm (*Bombyx mori* L.) using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis.

JIN Y.X., CHEN Y.Y., XU M.K. and JIANG Y.H.

2004 J.Biosciences, Vol. 29(1), 45-49. (E)

Molecular and mechanical properties of major ampullate silk of the black widow spider, *Latrodectus hesperus*.

LAWRENCE B.A., VIERRA C.A. and MOORE A.M.

Department of Chemistry, Eastern Illinois University, Charleston, Illinois 61920, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 689-695. (E)

Construction of silk fiber core in lepidoptera.

SEHNAL F. and ZUROVEC M.

Entomological Institute, Academy of Sciences, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 666-674. (E)

Conserved C-termini of Spidroins are secreted by the major ampullate glands and retained in the silk thread.

SPONNER A., UNGER E., GROSSE F. and WEISSHART K.

Institute of Molecular Biotechnology, Beutenbergstrasse 11, 07745 Jena, Germany.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 840-845. (E)

pH induced changes in the rheology of silk fibroin solution from the middle division of *Bombyx mori* silkworm.

TERRY A.E., KNIGHT D.P., PORTER D. and VOLLRATH F.

Department of Zoology, University of Oxford, South Parks Road, Oxford, OXI 3PS, United Kingdom.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 768-772. (E)

Copper in the silk formation process of *Bombyx mori* silkworm.

ZHOU L., CHEN X., SHAO Z., ZHOU P., KNIGHT D.P. and VOLLRATH F.

The Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Fudan University, Shanghai 200433, PR China.

2003 FEBS Letters, Vol. 554, 337-341. (E)

Soie

Silk

Biodegradation of *Bombyx mori* silk fibroin fibers and films.

ARAI T., FREDDI G., INNOCENTI R. and TSUKADA M.

2004 *J. Applied Polymer Science*, Vol.91(4), 2383-2390. (E)

Structural role of tyrosine in *Bombyx mori* silk fibroin, studied by solid-state NMR and molecular mechanics on a model peptide prepared as silk I an II.

ASAKURA T., SUITA K., KAMEDA T., AFONIN S. and ULRICH A.S.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.

2004 *Magn. Reson. Chem.*, Vol.42(2), 258-266. (E)

Estimation of the distribution of the saying number of cooked cocoons in the raw silk reeling machine.

BAI L. and MORIKAWA H.

Soochow University, N 1 Shizi Str. Suzhou 215006, China.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol.72(3), 185-190. (E)

Mapping Domain Structures in Silks from Insects and Spiders Related to Protein Assembly.

BINI E., KNIGHT D.P. and KAPLAN D.L.

Department of Biomedical Engineering and Biogineering Center, Tufts University, 4 Colby Street Medford, MA 02155, USA.

2004 *J. Mol. Biol.*, Vol. 335, 27-40. (E)

Chemical modification of *Bombyx mori* silk with epoxide EPSIB.

CAI Z.S., JIANG G.C. and QIU Y.P.

2004 *J. Applied Polymer Science*, Vol.91(6), 3579-3586. (E)

Spiderwebs and silk - Tracing evolution from molecules to genes to phenotypes.

CARREL J.E.

2004 *Science*, Vol.303(5655), 175. (E)

Conformation transition behavior of regenerated silk fibroin membranes in alcohol solution at high concentrations.

CHEN X., ZHOU L., SHAO Z.Z., ZHOU P., KNIGHT D.P. and VOLLRATH F.

2003 *Acta Chimica Sinica*, Vol.61(4), 625-629. (E)

Synthesis and characterization of spinning poly(acrylonitrile-co-silk fibroin peptide)s.

CHEN Z.M., SUZUKI M., KIMURA M., KONDO Y., HANABUSA K. and SHIRAI H.

2004 *J. Applied Polymer Science*, Vol. 61(3), 341-346. (E)

Adhesion and function of rat liver cells adherent to silk fibroin/collagen blend films.

CIRILLO B., MORRA M. and CATAPANO G.

*2004 Int. J. Artif. Organs, Vol.27(1), 60-8. (E)***Technology intervention to improve the energy efficiency and productivity of silk reeling sector.**

DHINGRA S., MANDE S., RAMAN P., SRINIVAS S.N. and KISHORE V.V.N.

*2004 Biomass and Bioenergy, Vol. 26(2), 195-203. (E)***Structural conformation of spidroin in solution : a synchrotron radiation circular dichroism study.**

DICKO C., KNIGHT D., KENNEY J.M. and VOLLRATH F.

Department of Zoology, Oxford University, OXI 3PS, United Kingdom.

*2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 758-767. (E)***Spider silk protein refolding is controlled by changing pH.**

DICKO C., VOLLRATH F. and KENNEY J.M.

Department of Zoology, Oxford University, OXI 3PS, United Kingdom.

*2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 704-710. (E)***A decoder NMR study of backbone orientation in Nephila clavipes dragline silk under varying strain and draw rate.**

ELES P.T. and MICHAL C.A.

Department of Physics and Astronomy, Univ of British Columbia, 6224 Agricultural Road, Vancouver, B C V6T 1Z1, Canada.

*2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 661-665. (E)***Strain dependent local phase transitions observed during controlled supercontraction reveal mechanisms in spider silk.**

ELES P.T. and MICHAL C.A.

*2004 Macromolecules, Vol. 37(4), 1342-1345. (E)***Degumming of silk fabric with several proteases.**

FREDDI G., MOSSOTTI R. and INNOCENTI R.

*2003 J. Biotechnology, Vol. 106(1), 101-112. (E)***Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite I. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(gamma-methacryloxypropyl trimethoxysilane)-grafted silk fibroin fibers through chemical bonding.**

FURUZONO T., KISHIDA A. and TANAKA J.

*2004 J. Materials Science Materials in Medicine, Vol. 15(1), 19-23. (E)***Preparation of lactose-silk fibroin conjugates and their application as a scaffold for hepatocyte attachment.**

GOTOH Y., NIIMI S., HAYAKAWA T. and MIYASHITA T.

*2004 Biomaterials, Vol. 25(6), 1131-1140. (E)***Sorption of an acid dye by silk fibre in the presence of bolaform electrolytes containing pyridine rings.**

HAMADA K. and WANG X.R.

*2003 Coloration Technology, Vol. 119(6), 331-335. (E)***Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats.**

JIN H.J., CHEN J.S., KARAGEORGIOU V., ALTMAN G.H. and KAPLAN D.L.

2004 Biomaterials, Vol. 25(6), 1039-1047. (E)

Biomaterial films of *Bombyx mori* silk fibroin with poly(ethylene oxide).

JIN H.J., PARK J., VALLUZI R., CEBE P. and KAPLAN D.L.

Depart. of Chemical & Biological Engineering, Bioeng., Tufts Univ, 4 Colby Street, Medford, Massachusetts 02155, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 711-717. (E)

Spectroscopic linear dichroism FT-IR studies of synthetic spider silk.

KOC Y., HAMMOND P.T., LENDL B. and GREGORIOU V.G.

2004 Macromolecular Symposia, Vol. 205, 191-198. (E)

Characterization of Sericin Powder Prepared from Citric Acid-degraded Sericin Polypeptides of the Silkworm, *Bombyx Mori*.

KURIOKA A., KURIOKA F. and YAMAZAKI M.

Silk Science Research Institute.

2004 Biosci Biotechnol Biochem., Vol. 68(4), 774-780. (E)

Washable properties of crepes made of super hybrid silk, blended yarns of silk and nylon.

KURIOKA F. and AOKI A.

Institute of Sericulture, 1053 Iikura, Ami-machi, Ibaraki-ken, 300-0324, Japan.

2003 Journal of Dainippon Silk Foundation, N 51, 1-13. (J)

Report on cocoon testing and examination in the last 5 years.

KUROKAWA T., OKAJIMA M., INOUE A., AMAKATA M. and SHIMIZU S.

Institute of Sericulture, 1053 Iikura, Ami-machi, Ibaraki-ken, 300-0324, Japan.

2003 Journal of Dainippon Silk Foundation, N 51, 39-41. (J)

Effects of crosslinking agents, dyeing temperature, and pH on mechanical performance and whiteness of silk fabric.

LEKSOPHEE T., SUPANSOMBOON S. and SOMBATSOMPOP N.

2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 91(2), 1000-1007. (E)

Radiation grafting/crosslinking of silk using electron-beam irradiation.

LIU J.Q., SHAO J.Z. and ZHENG J.H.

2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 91(3), 2028-2034. (E)

Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro.

MIN B.M., LEE G., KIM S.H., NAM Y.S., LEE T.S. and PARK W.H.

2004 Biomaterials, Vol. 25(7/8), 1289-1297. (E)

Laundrying : an important aspect of silk care.

NADIGER G.S. and SHARMA K.P.

Textiles Committee, Mumbai, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(1), 19-22. (E)

Dyeing of silk with carthamin isolated from Hanamochi.

NAGASHIMA N., OGASAWARA S. and KATAYAMA A.

The Japanese Society of Sericultural Science, c/o NIAS, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 The Journal of Sericultural Science of Japan, Vol. 72(3), 97-102. (J)

Porous 3-D scaffolds from regenerated silk fibroin.

NAZAROV R., JIN H.J. and KAPLAN D.L.

Tufts University, Bioengineering Center, 4 Colby Street, Medford, Massachusetts 02155, USA.

*2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 718-726. (E)***Structure of the model peptides of *Bombyx mori* silk-elastin like protein studied with solid state NMR.**

OHGO K., KURANO T.L., KUMASHIRO K.K. and ASAKURA T.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.

*2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 744-750. (E)***Development of Thrown-Reeled Silk.**

OKAJIMA M., KUROKAWA T., INOUE A., AMAGATA M., AOKI A., KURIOKA F., SHIMIZU S.

Institute of Sericulture, 1053 Ikura, Ami-machi, Ibaraki-ken, 300-0324, Japan.

*2003 Journal of Dainippon Silk Foundation, N 51, 15-22. (J)***Ultra-microindentation at the surface of silk membranes.**

ORENCH I.P., PUTTHANARAT S., CALLEJA F.J.B., EBY R.K. and STONE M.

*2004 Polymer, Vol. 45(6), 2041-2044. (E)***Active control on molecular conformations and tensile properties of spider silk.**

PAN Z.J., LI C.P. and XU Q.

*2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 92(2), 901-905. (E)***Silk fibroin-coated three-dimensional polyurethane scaffolds for tissue engineering : Interactions with normal human fibroblasts.**

PRA I. dal, PETRINI P., CHARINI A., BOZZINI S., FARE S. and ARMATO U.

*2003 Tissue Engineering, Vol. 9(6), 1113-1121. (E)***The color of dragline silk produced in captivity by the spider *Nephila clavipes*.**

PUTTHANARAT S., TAPADIA P., ZARKOUB S., MILLER L.D., EBY R.K. and ADAMS W.W.

*2004 Polymer, Vol. 45(6), 1933-1937. (E)***Studies on Boil-off Loss Ratio in the Cocoon Shells of Multivoltine x Bivoltine Hybrids of Silkworm, *Bombyx mori* L.**

RAGHAVENDRA RAO D., RAVINDRA SINGH, PREMALATHA V., SUDHA V.N., KARIAPPA et al.

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

*2004 Int. J. Indust. Entomol., Vol.8(1), 101-106. (E)***Influence of CO(2) on the micro-structural properties of spider dragline silk : X-ray microdiffraction results.**

RIEHEL C., ROSSLE M., SAPEDE D. and VOLLRATH F.

European Synchrotron Radiation Facility, BP 220, 38043 Cedex, Grenoble, France.

*2004 Naturwissenschaften, Vol.91(1), 30-3. (E)***Supercontraction stress in spider webs.**

SAVAGE K.N., GUERETTE P.A. and GOSLINE J.M.

Department of Zoology, 6270 Univ Boulevard, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada V6K 1Z4.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 675-679. (E)

Purification of spider silk-elastin from transgenic plants and application for human chondrocyte proliferation.

SHELLER J., HENGGELE D., VIVIANI A. and CONRAD U.

2004 Transgenic Research, Vol. 13(1), 51-57. (E)

Studies on Indian silk. II. Structure-property correlations.

SEN K. and BABU K.M.

2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 92(2), 1098-1115. (E)

Studies on Indian silk. III. Effect of structure on dyeing behavior.

SEN K. and BABU K.M.

2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 92(2), 1116-1123. (E)

Studies on Indian silk. I. Macrocharacterization and analysis of amino acid composition.

SEN K. and BABU K.M.

2004 J. Applied Polymer Science, Vol. 92(2), 1080-1097. (E)

Phase behavior and hydration of silk-fibroin.

SOHN S., STREY H.H. and GIDO S.P.

Department of Polymer Science and Engineering, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts 01003, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 751-757. (E)

Native and hydrolyzed fibroin of natural silk modified mechanochemically by benzimidazolyl-2-methylcarbamate hydrochloride.

TAKHTAGANOVA D.B., PAK T.S., KRISTALLOVICH E.L., ARIPOV K.N. and TASHPULATOV Y.T

2003 Chemistry of Natural Compounds, Vol. 39(3), 294-298. (E)

Analysis of structural properties and formation of sericin fiber by infrared spectroscopy.

TERAMOTO H. and MIYAZAWA M.

New Silk Materials Laboratory, National Institute of Agribiological Sciences, Gohda 1-4-8, Okaya, Nagano 394-0021, Japan.

2003 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 72(3), 157-162. (E)

X-ray evidence for a "super"-secondary structure in silk fibers.

VALLUZZI R. and JIN H.J.

Department of Chemical and Biological Engineering, Tufts University, 4 Colby Street, Medford, Massachusetts, 02155, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 696-703. (E)

Three-dimensional porous network structure developed in hydroxyapatite-based nanocomposites containing enzyme pretreated silk fibroin.

WANG L., NEMOTO R. and SENNA M.

2004 J. Nanoparticle Research, Vol. 6(1), 91-98. (E)

Effects of alkali pretreatment of silk fibroin on microstructure and properties of hydroxyapatite-silk fibroin nanocomposite.

WANG L., NIMOTO R. and SENNA M.

2004 J. Materials Science Materials in Medicine, Vol. 15(3), 261-265. (E)

Optical spectroscopy to investigate the structure of regenerated *Bombyx mori* silk fibroin in solution.

YANG Y., SHAO Z., CHEN X. and ZHOU P.

Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200433, People's Republic of China.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 773-779. (E)

Structures of *Bombyx mori* and *Samia cynthia ricini* silk fibroins studied with solid-state NMR.

YAO J., NAKAZAWA Y. and ASAKURA T.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 680-688. (E)

Variation of mechanical properties with amino acid content in the silk of *Nephila clavipes*.

ZAX D.B., ARMANIOS D.E., HORAK S., MALOWNIAK C. and YANG Z.

Department of Chemistry and Chemical Biology, Cornell University, Ithaca, New-York 14853-1301, USA.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(3), 732-738. (E)

Immobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters.

ZHANG Y.Q., TAO M.L., SHEN W.D., ZHOU Y.Z., DING Y., MA Y. and ZHOU L.

School of Agriculture Science and Technology, Soochow University, 1 Shizi St. Suzhou, Jiangsu 215006, China.

2004 Biomaterials, Vol. 25(7), 3751-3759. (E)

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to: **Dr G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.

- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in Arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 × 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

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

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

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

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

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. (1982) 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 × 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.