

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

Statistiques 2003 / Statistics 2003 i

Actualités / News v

Article scientifique / Scientific paper

Comparative ultra structural studies on tracheoles in the midgut of three silkworm species 283
 Etudes ultra structurales comparatives sur les trachéoles dans l'intestin moyen de trois espèces de vers à soie 293
 BEGONIA DKHAR, SUDIP DEY, A. RAGHUVARMAN & D. K. SHARMA

Rapports techniques / Technical reports

Breeding the new Bulgarian sex-limited for larval markings silkworm *Bombyx mori* L. commercial hybrid ZE/4 and study on its performance in the Philippines and Bulgaria 297
 Lignage d'un nouvel hybride commercial bulgare du ver à soie *Bombyx mori* limité au sexe pour les marquages larvaires, ZE4 et étude de sa performance aux Philippines et en Bulgarie 313
 P. I. TZENOV & Z. I. DE GUZMAN

Estimation of crop loss due to aspergillosis and pathogenicity of *Aspergillus* to silkworm, *Bombyx mori* L. 321
 Estimation des pertes de récoltes dues à l'aspergillose et pathogénicité de l'aspergillose pour le ver à soie, *Bombyx mori* L. 327
 G. P. SINGH, T. SELVAKUMAR, S. D. SHARMA, B. NATARAJU & R. K. DATTA

Evaluation of azadirachtin for its visible residual toxicity to tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. (Lepidoptera : Saturniidae) 331
 Evaluation de la toxicité résiduelle visible de l'azadiractine pour le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* D. (Lepidoptera: Saturniidae) 337
 S. P. SHARMA, RAM KISHORE, R. GUPTA, S. N. SINHADEO & B.R.R.P. SINHA

***In vitro* evaluation of some locally isolated microfungi for antagonism against mulberry fusarial blight pathogen (*Fusarium pallidoseum* (Cook) Saac.)** 341
 Evaluation *in vitro* de certains micro-champignons isolés localement pour leur antagonisme contre le pathogène de la flétrissure fusariale (*Fusarium pallidoseum* (Cook) Saac.) . . . 347
 N. A. MUNSHI & G. H. HASSAN DAR

Effect of row arrangements on yield and monetary benefits in mulberry (*Morus indica*) maize (*Zea mays*) and mulberry – finger millet (*Eleusine coracana*) intercropping . . 351
 Effet des dispositions en rangées sur le rendement et les bénéfices monétaires dans les inter-cultures mûrier (*Morus indica*) – maïs (*Zea mays*) et mûrier – millet (*Eleusine coracana*) 357
 B. R. DAYAKAR YADAV & T. D. NAGENDRA KUMAR

A study on the suitability of micro irrigation systems on mulberry leaf yield and silkworm rearing	361
Etude sur la validité des systèmes de micro-irrigation pour le rendement en feuilles de mûrier et l'élevage du ver à soie	369
N. SIDDALINGASWAMY, U. D. BONGALE, S. N. NARAYANAGOWDA & R. M. SHIVAPRAKASH	

Notes brèves / Brief notes

Rearing performance of muga on the primary and secondary food plants with an attempt for the revival of now extinct Mejankari silk heritage of Assam	373
Performance d'élevage du muga sur les plantes hôtes primaire et secondaire dans un essai pour faire revivre la soie Mejankari, patrimoine de l'Assam, aujourd'hui abandonnée	377
SURESH SAIKIA, RUMA HANDIQUE, ARUN PATHAK & KHARGESWAR DAS	

Report of bacterial blight in mulberry from Northern Karnataka and its management	381
Rapport sur la flétrissure bactérienne et sur sa gestion chez le mûrier dans le nord du Karnataka	385
M. R. RAVIKUMAR, B. G. PRAKASH & SHAMARAO JAHAGIRDAR	

The increase of productivity of mulberry plantations as a result of using bacterial fertilisers	387
Augmentation de la productivité dans les plantations de mûrier en utilisant des engrais biologiques	393
N. A. ALEKSEYCHENKO, A. V. GALANOVA, P. P. ANANYEV, ...	
E. V. NADKERNICHNAYA & Y. A. GONCHAR	

Bibliographie / Bibliography	397
Sériciculture générale / General sericulture	399
Mûrier / Mulberry	403
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	407
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology	413
Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics	415
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry	419
Vers à soie : œufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology	423
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms: silk glands	425
Soie / Silk	427

Statistiques 2003 - 2003 Statistics

Tableau I. Production de cocons et de soie grège en 2003.

Table I. 2003 cocoon and raw silk production.

Pays	Cocons frais	Soie grège
<i>Country</i>	<i>Fresh cocoons (tonnes)</i>	<i>Raw silk (tonnes)</i>
Brésil / <i>Brazil</i> ⁽¹⁾	9 966	1 563
Bulgarie / <i>Bulgaria</i>	0.3	-
Chine / <i>China</i>	480 000	94 600
Egypte / <i>Egypt</i>	0	0
Grèce / <i>Greece</i>	60	4
Inde / <i>India</i> ⁽²⁾	129 948 ⁽³⁾	16 369 ⁽⁴⁾
Iran	3 200	500
Italie / <i>Italy</i>	1	0.1
Japon / <i>Japan</i>	776	287
Philippines	23	3
Roumanie / <i>Rumania</i>	3	0
Syrie / <i>Syria</i>	15	2
Thaïlande / <i>Thailand</i>	10 500	1 500
Turquie / <i>Turkey</i>	169	28

- Non disponible / Not available.

(1) 2002 / 2003.

(2) avril 2002 - mars 2003 / *april 2002 - march 2003*.

(3) dont 1 767 tonnes de cocons eri / *including 1 767 tons of eri cocoons*.

(4) dont 1 702 tonnes non mûrier / *including 1 702 tons non mulberry*.

Tableau II. Exportations et importations de cocons et de soie grège en 2003.**Table II. 2003 cocoon and raw silk imports and exports.**

Pays	Exportation de cocons secs	Exportation de soie grège	Importation de cocons secs	Importation de soie grège
Country	Dry cocoon exports (tonnes)	Raw silk exports (tonnes)	Dry cocoon imports (tonnes)	Raw silk imports (tonnes)
Brésil / Brazil	119	1 488	-	27
Chine / China	142	28 098 ⁽¹⁾	432	4 993 ⁽²⁾
Inde / India	16	23	17	9 054 ⁽³⁾
Italie / Italy	1	520	0	2 219
Japon / Japan	-	90	258	1 915 ⁽⁴⁾
Philippines	0	0	0	14
Roumanie / Rumania	0	0	0	0
Thaïlande / Thailand	-	16	7	284
Turquie / Turkey	66	0	-	-

- Non disponible / Not available.

(1) dont 18 276 tonnes non mûrier / including 18 276 tons non mulberry.

(2) dont 4 755 tonnes non mûrier / including 4 755 tons non mulberry.

(3) dont 941 tonnes non mûrier / including 941 tons non mulberry.

(4) dont 66 tonnes non mûrier / including 66 tons non mulberry.

Tableau III. Prix moyens du kilogramme de cocons en dollars américains en 2003.*Table III. Average prices for 1 kg cocoons in US dollars in 2003.*

Pays	Prix payé aux producteurs (cocons frais)	Prix à l'exportation (cocons secs)	Prix à l'importation (cocons secs)
<i>Country</i>	<i>Price paid to producers (fresh cocoons)</i>	<i>Export price (dry cocoons)</i>	<i>Import price (dry cocoons)</i>
Brésil / <i>Brazil</i>	1.60	4.30	-
Bulgarie / <i>Bulgaria</i>	3.0	-	-
Chine / <i>China</i>	1.6	6	-
Grèce / <i>Greece</i>	2.6	-	-
Inde / <i>India</i>	2	-	-
Iran	2.3	-	-
Italie / <i>Italy</i>	7.5	-	-
Japon / <i>Japan</i>	15	-	6
Philippines	2.5	xx	xx
Roumanie / <i>Rumania</i>	3	xx	xx
Syrie / <i>Syria</i>	4	xx	xx
Thaïlande / <i>Thailand</i>	2.5	-	7
Turquie / <i>Turkey</i>	7	3.3	-

- Non disponible / Not available.

xx: Pas d'exportation / d'importation de cocons.

No cocoon export / import.

PORTUGAL

A NEW TECHNIQUE OF SILK PRODUCTION

The city of Freixo de Espada in Cinta (in the region of Bragança, north of Portugal) in partnership with the University of Athens and with Italian (OMCM SPA), Greek (Evrosilk) and Portuguese (Coopafreixo) companies is welcoming the European project of a new technique of silkworm rearing and of cocoons production.

Launched in November 2002, this project which is benefiting from a financial support from the European Community should be completed in November 2004. It lies on the use of an innovative technology of automated cocoons processing.

The aim of the project is to increase the production so that the European Union can reach 10% of its needs, assessed to 6000 tons, in 2006, versus one ton produced today. China is its main supplier.

The Research and Development aspect of cultivation: assessment of the best methods for planting mulberry trees (watering, fertilizers, etc) and advice to producers; analysis of the levels of quality of cocoons is taken care of by the University of Athens.

The Italian company OMCM SPA is taking care of the industrial equipment.

The Portuguese agricultural co-operative Coopafreixo, in charge of cocoons rearing and processing, was selected for its experience in silk production. Indeed, the region of Bragança is the historical place where the royal weaving company of Chacim was developed at the end of the 18th century.

The totality of the production will be bought by the Greek company Evrosilk, a silk ties manufacturer.

The not negligible spin-off for the region:

Approximately 4000 mulberries imported from Greece were planted on three hectares in the region of Freixo. For the initiators of this project, the mulberry cultivation could be relatively profitable since it could bring about 20 thousand Euros per year and per hectare to the farmer.

A space of about 400 m² is being constructed by Coopafreixo. However, insofar as cocoons rearing and processing will be automated, there is no expectation of a great number of job creations in this company (on average 6 job creations).

Several companies are interested in the setting-up of a factory producing silk yarn in the region, notably the Portuguese company of underwear Euro-intimo which is contemplating the setting-up of a unit of 12 to 20 persons, representing an investment of 400 thousand Euros. Euro-intimo, in the field of textile for 30 years, is exporting the totality of its production to the United-Kingdom, France and Japan. The selling prices of these items range from 400 to 2000 Euros.

The major obstacle to the development of this industry lies in the competition from Asian countries, as the prices practiced by India, Pakistan and especially China (11 to 13 Euros per kg of silk ready to be used) are competitive. The success of this project from the European Community will depend on the quality of the Portuguese fibre produced, which should be of high quality and at a reasonable cost.

Source: Economic Mission (Embassy of France, Lisbon, Portugal).

PORTUGAL

NOUVELLE TECHNIQUE DE PRODUCTION DE LA SOIE

La ville de Freixo de Espada à Cinta (dans la région de Bragança, au nord du Portugal) en partenariat avec l'université d'Athènes et des entreprises italiennes (OMCM SPA), grecque (Evrosilk) et portugaise (Coopafreixo), accueille le projet européen d'une nouvelle technique d'élevage de vers à soie et de production de cocons.

Lancé depuis novembre 2002, ce projet qui bénéficie d'un financement communautaire, devrait s'achever en novembre 2004. Il repose sur l'utilisation d'une technologie innovante permettant un traitement automatisé des cocons.

L'objectif du projet est l'augmentation de la production pour permettre à l'Union européenne d'atteindre, en 2006, 10 % de ses besoins, évalués à 6000 tonnes, contre une tonne actuellement produite. La Chine est son principal fournisseur.

L'université d'Athènes assure la partie recherche et développement de la culture : détermination des meilleures méthodes de plantation des mûriers (arrosage, fertilisants, etc.) et conseils aux producteurs ; analyse des niveaux de qualité des cocons.

L'entreprise italienne OMCM SPA est en charge de l'équipement industriel.

La coopérative agricole portugaise Coopafreixo, chargée de la culture et de la transformation des cocons, a été sélectionnée pour son expérience dans la production de la soie. En effet, la région de Bragança est le lieu historique de la sériciculture portugaise où s'est développée, vers la fin du 18^{ème} siècle, la filature royale de Chacim.

La totalité de la production sera achetée par l'entreprise grecque Evrosilk, fabricant de cravates en soie.

Des retombées non négligeables pour la région :

Près de 4 000 mûriers importés de Grèce ont été plantés sur trois hectares dans le territoire de Freixo. Pour les initiateurs du projet, la culture de mûrier serait relativement rentable puisqu'elle pourrait rapporter à l'agriculteur près de 20 mille Euros par an et par hectare.

Un espace de près de 400 m² est en cours de construction par Coopafreixo. Toutefois, dans la mesure où l'élevage et le traitement des cocons seront automatisés, il n'est pas attendu un nombre important de création d'emplois dans cette entreprise (6 emplois en moyenne).

Plusieurs entreprises sont intéressées par une installation dans la région d'une usine de production de fil de soie, notamment l'entreprise portugaise de lingerie Euro-intimo qui envisage l'installation d'une unité de 12 à 20 personnes représentant un investissement de 400 mille Euros. Euro-intimo, depuis 30 ans dans le secteur textile, exporte la totalité de sa production vers le Royaume Uni, la France et le Japon. Le prix de vente de ses articles sont dans une fourchette de prix de 400 à 2000 Euros.

La concurrence des pays asiatiques est l'obstacle majeur du développement de cette industrie, les prix pratiqués par l'Inde, le Pakistan et surtout la Chine (11 à 13 Euros par kg de soie prête à être utilisée) étant compétitifs. La réussite du projet communautaire dépendra de la qualité de la fibre portugaise produite, qui doit être du haut de gamme et à un coût modéré.

Source : Mission Economique (Ambassade de France, Lisbonne, Portugal)

THAILAND

WORLD TRADE LIBERALIZATION – IMPACT ON THAI SILK INDUSTRY

The Director of the Sericultural Research Centre of Nakorn Ratchasima (Korat) mentioned that Thai silk producers were worried about the world trade liberalization which might entail a flow of Chinese and Indian silk imports.

At the time being, the local silk producers are already complaining about smuggled imports of Vietnamese silk through the Laotian and Chinese borders. In Thailand imports amount to about 800 tons of silk per year of which 500 to 600 tons are smuggled.

Normally, the Thai silk consumption is of about 2 000 tons per year, whereas the local production is only of 1 400 tons. 1 600 tons are aimed at the making of handicrafts and the remaining at industrials.

The Ministry of Agriculture has developed a plan of action for increasing the local silk production capacity from 1 400 to 2 600 tons by 2008, in the aim of developing the production of Thai silk.

The Ministry is also planning to double the Thai exports of silk from 900 millions of THB (17.77 millions Euros) today to 1.80 milliards of THB (35.53 millions Euros) in 2008.

About 150 000 Thai farmers are involved in sericulture. However, the number of silk producers has considerably decreased throughout the last years because of the drop in prices and of the little interest demonstrated by the government in this area.

Source: Bangkok Post of the 02/07/2004.

THAILANDE

**LIBÉRALISATION DU COMMERCE MONDIAL – IMPACT SUR
L'INDUSTRIE THAÏLANDAISE DE LA SOIE**

Le Directeur du Centre de Recherche de Sériciculture de Nakom Ratchasima (Korat) a évoqué l'inquiétude des producteurs de soie thaïlandais face à la libéralisation du commerce mondial qui risque d'entraîner un flux d'importation de soie chinoise et indienne.

Actuellement, les producteurs de soie locaux se plaignent déjà des importations en fraude de soie vietnamienne à travers les frontières laotienne et chinoise. La Thaïlande doit importer annuellement environ 800 tonnes de soie, et 500 à 600 tonnes sont importées en fraude.

Normalement, la consommation thaïlandaise de soie est de 2000 tonnes par an, tandis que la production locale n'est que de 1 400 tonnes. 1 600 tonnes sont destinées à la fabrication des articles artisanaux et le reste aux industriels.

Afin de développer la production de la soie thaïlandaise, le Ministère de l'Agriculture a mis au point un plan d'action pour augmenter la capacité de production de la soie locale de 1 400 tonnes à 2 600 tonnes d'ici à 2008.

Le Ministère a également envisagé de doubler les exportations thaïlandaises de soie de 900 millions THB (17,77 millions Euros) actuellement à 1,80 milliards THB (35,53 millions Euros) en 2008.

Environ 150 000 agriculteurs thaïlandais sont engagés dans la sériciculture. Toutefois, le nombre de producteurs de soie a considérablement diminué au cours des dernières années suite à la chute des prix et du peu d'intérêt montré par le gouvernement pour ce secteur.

Source : Bangkok Post du 02/07/2004.

COMPARATIVE ULTRA STRUCTURAL STUDIES ON TRACHEOLES IN THE MIDGUT OF THREE SILKWORM SPECIES

BEGONIA DKHAR¹, SUDIP DEY^{1*}, A. RAGHUVARMAN² & D.K. SHARMA³

1. Electron Microscope Laboratory, Regional Sophisticated Instrumentation Centre, North Eastern Hill University, Bijnai Complex, Laitumkhrah, Shillong- 793003, India.

2. Department of Zoology, North Eastern Hill University, Shillong- 793022, India.

3. Department of Zoology, Gauhati University, Guwahati – 14, India.

*Comparative studies on tracheolar distribution, dimension and density in the midgut cells of three silkworm species, i. e. **Bombyx mori** (Mulberry), **Samia Cynthia ricini** and **Antheraea assama** (Muga) revealed that there exist remarkable differences in density, dimension and distribution pattern in the three species. In **Bombyx mori**, the shape of the tracheoles was found to be oblong, oval or round, the maximum number being that of oblong tracheoles. In **Samia Cynthia ricini** on the other hand, the three shapes of the tracheoles were found to be of almost similar number. In contrast, majority of the tracheoles in **Antheraea assama** were either oval or round. The density of the tracheoles was noted to be the highest in the mid-gut cells of **Antheraea assama**. The taenidial folds in the tracheoles in mid-gut showed strong and continuous taenidial ridges in **Bombyx mori**, smooth ridges in **Samia Cynthia ricini** and smooth as well as strong ridges in different tracheoles in **Antheraea assama**. The significance of the characteristic structural features, density, shape etc. of tracheoles in mid-gut cells of **Antheraea assama** as compared to those of the other two silkworm species is discussed with the help of available literature.*

Keywords: *Antheraea assama*, TEM, tracheoles, ultra structure, silkworm.

INTRODUCTION

Antheraea assama is a semi domesticated, multi-voltine polyphagous insect having about six broods in a year (Seitz, 1933). The insect is indigenous to Assam and other North Eastern states of India, and so far it could not be reared in other parts of the country.

The seasonal variation in environmental condition are reported to influence the growth and development, pupal weight, shell weight, fecundity etc. of the worm and reelability of the silk (Thangavelu and Sahu, 1986; Yadav and Goswami, 1999).

Unlike many of the silkworm species *Antheraea assama* (Muga silkworm) could not be domesticated successfully, and hence the commercial rearing is carried out mostly under outdoor conditions subjecting the delicate worms to environmental constraints such as rain, hailstorm and a number of natural predators e.g. birds.

Several attempts made in the past to rear the worm under indoor conditions were not very encouraging due to a number of problems including feeding, digestion and assimilation of food etc. (Thangavelu and Sahu, 1986). It is reasonable that before attempting the indoor rearing of muga silkworm, a detailed knowledge about its feeding behaviour, physiology of feeding and digestion, specialisation in structural features of associated organs etc. are essential. It is surprising to note that

* Address for correspondence

reports on basic morphological, anatomical and ultrastructural studies on muga silkworm are extremely low (Hazarika and Bordoloi, 1998; Dey *et al.*, 1997; Dey, 1999; Dey *et al.*, 1999; Dey *et al.*, 2002.), and probably this lacuna in our knowledge is one of the reasons for less success in any experimentation with the worm including indoor rearing. A recent study published from our laboratory showed some unique structural features of the midgut of the worm which is likely to have direct impact on indoor rearing (Dey *et al.*, 1999). Another study carried out by us also showed some unique sensory structure in the worm governing the feeding posture and eventually the digestive physiology (Dey *et al.*, 2002).

As a part of our ongoing studies on muga silkworm ultrastructure with reference to its eco-physiology, the present study was aimed at tracheolar features, particularly the distribution pattern, dimension etc. Comparisons were made with those of other silkworm species, which are domesticated. The tracheolar system has been taken up for this study because they are related to oxygen and carbon dioxide diffusion capacity of the tissue with which they are associated. This assumes further importance because the role of tracheal elements in local oxygen consumption is acknowledged in recent literature (Schmitz and Perry, 1999).

MATERIALS AND METHODS

Midgut of the mature fifth instar larvae of semi domesticated *Antheraea assama* (Muga silkworm), domesticated silkworm species, *Bombyx mori* (Mulberry silkworm) and domesticated species, *Samia ricini* (Eri silkworm) were used in this work. The mature larvae of the three silkworm species were obtained from Central Silk Board Extension Center, Nongpoh, Meghalaya; State Mulberry Farm, Shillong and State Eri Farm Nongpoh respectively. The midgut sample were cut into small pieces and were fixed for four hours at 4°C in 3% glutaraldehyde prepared in 0.1M sodium cacodylate buffer (pH 7.2). The fixed specimens were washed thoroughly with 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, post fixed with 1% osmium tetroxide in the same buffer for 1 h at 4°C. Specimens were dehydrated in graded series of acetone to propylene oxide and embedded in Araldite in beam capsules. Pieces of plastic embedded tissue were reoriented, and ultra-thin sections (600-900 Å) were cut on an RMC ultra microtome, MT-X, with a diamond knife. The sections were collected on copper grid and stained with 5% aqueous uranyl-actate solution for 10 minutes at 40°C followed by lead citrate (Reynolds, 1963). The sections were examined with a JEM 100CXII Transmission Electron Microscope (Jeol) at an accelerating voltage of 80 kV.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Shape of the tracheoles and their distribution pattern:

Transmission Electron Microscopic analysis of the tracheoles of the midgut cells revealed some differences among the three silkworm species studied. In *Bombyx mori* (Mulberry silkworm), the tracheoles were mostly oblong in shape and were not concentrated in a particular area showing scattered distribution pattern (Fig 1, 4). Similar was the situation in *Samia ricini* (Eri silkworm), where the tracheoles were mostly oblong with a few oval or round tracheoles. Distribution was also noted to be scattered. (Fig 2, 5). In contrast *Antheraea assama* (Muga silkworm) midgut exhibited mostly oval or round tracheoles, and their distribution were concentrated at the site of occurrence. (Fig 3, 6). The importance of tracheal system and the role of tracheal volume in diffusing capacity of oxygen and carbon dioxide have been discussed in some recent literature (Schmitz and Perry, 1999). It was also discussed that the lateral diffusing capacity for oxygen and carbon dioxide for different classes of trachea (according to their diameters) are different. This suggests that the shape and size of the trachea, which will determine its volume, is important for understanding its diffusing capacity with reference to tissue respiration.



Fig. 1. Transmission electron micrograph showing scattered distribution pattern of tracheoles in different parts of midgut cells in *Bombyx mori* × 7500.

Fig. 1. Micrographie électronique à transmission montrant la distribution dispersée des trachéoles dans différentes parties des cellules de l'intestin moyen chez Bombyx mori × 7500.



Fig. 2. Transmission electron micrograph showing scattered distribution pattern of tracheoles in different parts of midgut cells in *Samia ricini* × 7500.

Fig. 2. Micrographie électronique à transmission présentant la distribution dispersée des trachéoles dans différentes parties des cellules de l'intestin moyen chez Samia ricini × 7500.

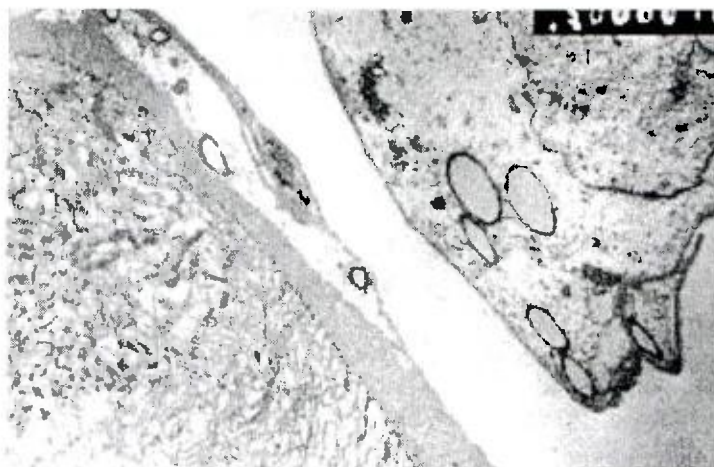


Fig . 3. Transmission electron micrograph showing localised distribution pattern of tracheoles in different parts of midgut cells in *Antheraea assama* $\times 7500$.

Fig. 3. Micrographie électronique à transmission présentant la distribution localisée des trachéoles dans différentes parties des cellules de l'intestin moyen chez Antheraea assama $\times 7500$.

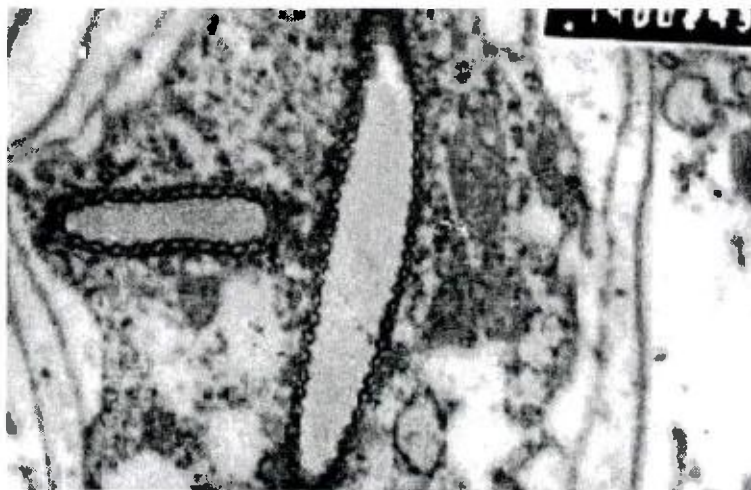


Fig . 4. Less number of tracheoles with large dimension in major portion of midgut cells in *Bombyx mori* $\times 21,000$. Strong taenidial folds of tracheoles are evident.

Fig. 4. Nombre inférieur de trachéoles de grande dimension dans la partie principale des cellules de l'intestin moyen chez Bombyx mori $\times 21\ 000$. Les plis taenidiens marqués des trachéoles sont évidents.

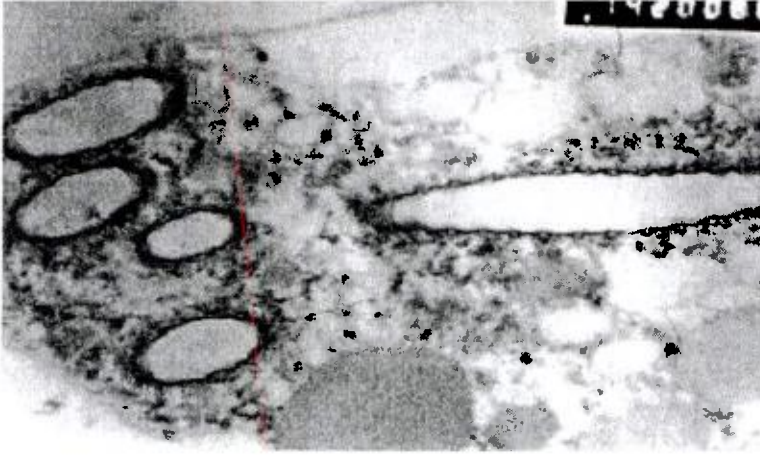


Fig. 5. Medium density of tracheoles in major portion of midgut cells in *Samia ricini* $\times 21,000$. Smooth tracheolar lining is clear. Presence of small tubercles in the lining of tracheoles exist (arrow).

Fig. 5. Densité moyenne de trachéoles dans la partie principale des cellules de l'intestin moyen chez Samia ricini $\times 21\ 000$. La paroi lisse trachéolaire est claire. On note la présence de petits tubercules dans la paroi de la trachéole (flèche).

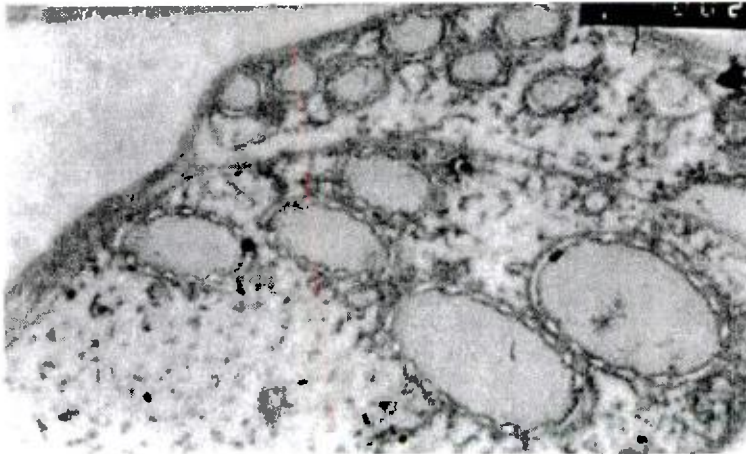


Fig. 6. High density of tracheoles in major portion of midgut cells in *Antheraea assama* $\times 21,000$. Presence of smooth walled tracheoles as well as tracheoles with strong taenidial folds are evident.

Fig. 6. Densité élevée de trachéoles dans la partie principale des cellules de l'intestin moyen chez Antheraea assama $\times 21\ 000$. La présence de trachéoles à paroi lisse ainsi que de trachéoles avec des plis ténidiens marqués est évidente.

Table I. Comparative data on shape, dimension and number of tracheoles in *Bombyx mori*, *Samia Cynthia ricini* and *Antheraea assama*.

The data on shape, size and number of tracheoles are the maximum and minimum ranges of ten observations each on the three silkworm species.

Tableau I. Données comparatives sur la forme, la dimension et le nombre de trachéoles chez *Bombyx mori* L., *Samia cynthia ricini* et *Antheraea assama*.

Les données sur la forme, la taille et le nombre des trachéoles sont les fourchettes maximum et minimum de dix observations sur les trois espèces de vers à soie.

Name of the silkworm species	Shape of the tracheoles	Size in micron		Number (per 29.4µm ² area)
		Longer diameter	Shorter diameter	
		Taille en microns		
Nom de l'espèce de ver à soie	Forme des trachéoles	Diamètre le plus grand	Diamètre le plus faible	Nombre (par surface de 29,4 µm ²)
<i>Bombyx mori</i>	Oblong / Oblongue - 50% Oval / Ovale - 33.4% Round / Ronde - 16.6%	1 - 6 µ	0.2 - 0.7µ	2
<i>Samia cynthia ricini</i>	Oblong / Oblongue - 33.3% Oval / Ovale - 33.3% Round / Ronde - 33.3%	0.3 -4.7 µ	0.3 - 0.75µ	7
<i>Antheraea assama</i>	Oval / Ovale - 50% Round / Ronde - 50%	0.25 - 1.9µ	0.25 - 1.1µ	14

The differences in distribution pattern of the tracheoles in the midgut of the three silkworm species suggest that the oxygen requirement for tissue respiration in midgut is not the same for all the three species. The scattered distribution pattern of the tracheoles in the midgut cells of *Samia ricini* and *Bombyx mori* indicates that their requirement for local oxygen consumption is not very high. In contrast, the localized distribution patterns of tracheoles in the muga silkworm *Antheraea assama* suggest its higher oxygen demand for local tissue respiration. It is to be noted in this context that suppression of the development of respiratory pigments in the evolution of terrestrial insects might have increased the relative importance of small tracheal elements for local oxygen consumption (Schmitz and Perry, 1999).

Table II. Comparative data on width of the gut of *Bombyx mori*, *Samia Cynthia ricini* and *Antheraea assama*.

The data are the maximum and minimum ranges of ten observations each on the three silkworm species.

Tableau II. Données comparatives sur la largeur de l'intestin de *Bombyx mori*, *Samia cynthia ricini* et *Antheraea assama*.

Les données sont les fourchettes maximum et minimum de dix observations chez les trois espèces de vers à soie.

Name of the silkworm species	Width of the gut (centimetre)
Nom de l'espèce de ver à soie	Largeur de l'intestin (centimètres)
<i>Bombyx mori</i>	0.9 – 1.2
<i>Samia Cynthia ricini</i>	1.0 – 1.1
<i>Antheraea assama</i>	1.2 – 1.4

A very recent work carried out on oxygen levels in the gut lumen of herbivorous insects suggested that most of the caterpillars have low levels of oxygen in their gut except those whose guts are larger in diameter (Johnson and Barbehenn, 2000). Our observations on concentrated distribution pattern of tracheoles in the midgut of *Antheraea assama* in contrast to scattered distribution pattern of tracheoles in *Samia ricini* and *Bombyx mori* suggest that *Antheraea assama* has a greater degree of local oxygen consumption. It is to be noted in this context that *Antheraea assama* has a larger diameter of the gut as compared to *Samia ricini* and *Bombyx mori*. (Table II)

2. Tracheal size and number:

When comparisons were made on average size (larger diameter and shorter diameter) of tracheoles distributed in the mid-gut in the three silkworm species, it was observed that longer diameter ranged between 1 to 6 μ in mulberry, 0.3 to 4.7 μ in eri and 0.25 to 1.9 μ in muga silkworm. The shorter diameter of tracheoles in mulberry silkworm ranged between 0.2 to 0.7 μ , in eri between 0.3 to 0.75 μ and in muga 0.25 to 1.1 μ (Table I). This observation suggests that although some very long tracheoles are present in mulberry silkworm and eri silkworm, there is no such long trachea in muga silkworm. As far as the shorter diameter is concerned, in mulberry and eri it was more or less the same, whereas in muga, some of the tracheoles showed quite large shorter diameter as compared to the other silkworm species. In fact the muga silkworm exhibited more or less round tracheoles and hence there were not much variation in their larger and shorter diameters in an individual tracheole. However, the ranges in the diameter size shows that there are small as well as large round tracheoles in muga silkworm midgut, whereas in the other two species, elongated tracheoles are the maximum. The presence of smaller tracheoles and their higher concentration in some location appears to be significant since small tracheoles of around 2 μ diameter are known to make up 70% oxygen and 60% carbon dioxide of the total diffusing capacity (Johnson and Barbehenn, 2000). Our present observations could not find significant differences in the shorter diameter of tracheoles among the three silkworm species. However longer tracheoles prevalent in eri and mulberry silkworm suggest that fewer numbers of tracheoles can take care of oxygen requirement of a large area of the midgut

cells. This is because the worms have less oxygen demand in the gut due to their smaller size (Johnson and Barbehann, 2000). In muga silkworm on the other hand, round shape of the tracheoles, their concentration in localized area and smaller as well as larger diameter suggest that tracheolar system in it is better developed as compared to eri and mulberry silkworm. This is probably necessitated by higher oxygen demand in the gut of muga silkworm due to the large gut size (Johnson and Barbehann, 2000). As far as the number of tracheoles is concerned, it was observed that under identical magnification in the identical area of midgut cells, the number of tracheoles were much higher in muga silkworm as compared to that of eri and mulberry. (Table I).

3. Fine structure of taenidial folds in the tracheolar system:

Comparison on fine structure of the taenidial folds in the trachea of *Antheraea assama*, *Bombyx mori* and *Samia ricini* revealed that in *Bombyx mori* the taenidial ridges are strong and continuous (Fig 5), whereas in *Samia ricini* the tracheolar lining is smooth (Fig 6). However the lining of tracheoles bears small tubercles. In *Antheraea assama* on the other hand, some of the tracheoles show strong taenidial fold, but not as strong as that of the *Bombyx mori*, while some tracheoles are more or less smooth in their lining (Fig 4). Strong taenidial folds are reported to provide a strengthening mechanism to the taenidia so that it can resist radial compression and collapse. It has also been reported that strong taenidial folds are not of general occurrence and are found only in the stoutest tracheal trunk of some species (Smith, 1968). In a study of the fine structure of trachea and tracheoles associated with the silk moth pro-thoracic gland, (Beaulaton, 1964) it was found that the larger trunks possess, in addition to the taenidial thread, other cuticular structure including a continuous layer of endocuticle. Although trachea with strong taenidial ridges can resist compression and collapse, they are not ideal as far as the oxygen transfer is concerned. This is due to the fact that the greater part of oxygen transfer takes place from the thin walled tracheoles since they minimise the diffusion distance between them and the respiring cells. Hence it appears that although the taenidial structural strength has some advantage for *Bombyx mori*, it has some limitations towards oxygen diffusion. This proves that *Bombyx mori* does not require much tissue respiration in its gut. The smaller size of the gut of *Bombyx mori* supports the view. The thin and smooth tracheolar lining in *Samia ricini* may be ideal for oxygen transfer but it also has the disadvantage of inability to resist radial compression and collapse. This suggests that the insect has not developed the tracheal system in the gut to the greatest possible extent for their best utilisation. This is probably due to the fact that oxygen demand in the gut is not very high in *Samia ricini*. Relatively low width of the gut suggests this.

In contrast, the presence of smooth walled tracheoles as well as tracheoles with strong taenidial ridges in *Antheraea assama* suggest that the well developed tracheole system in the gut has taken care of resisting radial compression and collapse along with smooth oxygen diffusion.

CONCLUSION

The present study suggests that the tracheole system in the midgut of *Antheraea assama* is much better developed as compared to those of the other silkworm species. This is probably associated with higher oxygen demand for tissue respiration. The larger width of the gut of *Antheraea assama* as compared to that of *Bombyx mori* and *Samia ricini* supports the view (Johnson and Barbehann, 2000).

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are thankful to Prof. B. Myrboh, Head, Regional Sophisticated Instrumentation Centre, North Eastern Hill University, Shillong for encouragement and interest in the work. One of the authors (S.D.) is thankful to North Eastern Council, Shillong for financial assistance to carry out the work.

REFERENCES:

- BEAULATON J (1964): Les ultra structures des trachus et de leurs ramifications dans la glande prothoracique du ver a soie tussor (*Antheraea pernyi guer*, Lepidoptere, Attacidae). J. Micr., 3, 91 -104.
- DEY SUDIP., HOOROO, R.N.K.. & BISWAS, N. (1997): Dendritic organisation of prominent sensory structure on the body of the first instar larva of the muga silkworm, *Antheraea assamensis*. Cytobios. 92, 99 -110.
- DEY, SUDIP. (1999): Scanning Electron Microscopic detection of an unusual giant sensilla on the abdominal cuticle of the fifth instar larvae of the muga silkworm *Antheraea assama*, Micron, 30/4, 339-348
- DEY SUDIP, HOOROO RNK., BISWAS N., RAGHUVARMAN A. & CHOUDHURY S. (1999): Cellular features of the muga silkworm (*Antheraea assama*, Ww. Lepidoptera: Saturniidae) midgut and its possible impact on indoor rearing. Sericologia. 39(4), 529 - 535.
- DEY SUDIP, SINGH. S., DHAR N. J., BISWAS. N., CHAKRABORTY, R., DAS, P. K., SHARMA D. K., RAGHUVARMAN A. (2002): Possible relationship between dorsal campaniform sensilla in head surface and preferred feeding posture of muga silkworm, *Antheraea assama* during indoor rearing. Sericologia. 42(2) 171-180.
- HAZARIKA. L.K. & BORDOLOI. S. (1998) Antennal and mouthpart sensilla of the muga silkworm, *Antheraea assama* (Lepidoptera: Saturniidae), Sericologia, 38(1) 55-63.
- JOHNSON. K.S. & BARBEHENN. (2000) Oxygen level in the gut lumens of herbivorous insects. J. Insect. Physiol; 46(6): 897- 903.
- REYNOLD E.S. (1963): The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208-212.
- SEITZ. A. (1933) The Macrolepidoptera of the World, Alfred Keren Publishers, Stuttgart, Vol. 10, pp- 909.
- SMITH D.S. (1968) Insect cells: Their Structure and Function. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- SCHMITZ. A. & PERRY. S. F. (1999): Stereological determination of tracheal volume and diffusing capacity of the tracheal walls in stick insect *Carausius morosus* (Phasmatodea, Lonchondidae). Physiol Biochem. Zool. 1999; 72 (2): 205-18.
- THANGAVELU. K. & SAHU. A. K. (1986) Further studies on the indoor rearing of muga silkworm (*Antheraea assama* Ww) (Saturniidae: Lepidoptera). Sericologia, 26 (2): 215- 224.
- YADAV, G.S. & GOSWAMI. B.C. (1999) Correlation and regression studies between different quantitative characters of muga silkworm *Antheraea assamensis* Helfer during two commercial crops. Bull. Ind. Acad. Seri., 3(2) 12-20.

ETUDES ULTRA STRUCTURALES COMPARATIVES SUR LES TRACHEOLES DANS L'INTESTIN MOYEN DE TROIS ESPECES DE VERS A SOIE

BEGONIA DKHAR¹, SUDIP DEY^{1*}, A. RAGHUVARMAN² & D. K. SHARMA³

1. Electron Microscope Laboratory, Regional Sophisticated Instrumentation Centre, North Eastern Hill University, Bijnai Complex, Laitumkhrah, Shillong – 793 003, Inde.

2. Department of Zoology, North Eastern Hill University, Shillong – 793 022, Inde.

3. Department of Zoology, Gauhati University, Guwahati –14, Inde.

*Les études comparatives sur la distribution trachéolaire, la dimension et la densité des cellules de l'intestin moyen de trois espèces de ver à soie, c'est à dire **Bombyx mori** (mûrier), **Samia cynthia ricini** et **Antheraea assama** (muga) révèlent qu'il existe des différences remarquables pour la densité, les dimensions et la distribution chez les trois espèces. Chez **Bombyx mori**, la forme des trachéoles se révèle oblongue, ovale ou ronde et les trachéoles oblongues sont les plus nombreuses. Chez **Samia cynthia ricini** il s'avère que les trois formes de trachéoles sont en nombre presque équivalent. En revanche, chez **Antheraea assama**, la plupart des trachéoles sont soit ovales ou rondes. On remarque que la densité des trachéoles est la plus élevée dans les cellules de l'intestin moyen d'**Antheraea assama**. Chez **Bombyx mori**, les plis ténidiens dans les trachéoles de l'intestin moyen présentent de fortes arêtes ténidiennes continues chez **Samia cynthia ricini** des arêtes lisses et chez **Antheraea assama** des arêtes lisses et fortes dans différentes trachéoles. Nous évoquons la signification des caractéristiques structurelles particulières, de la densité, de la forme etc.. des trachéoles dans les cellules de l'intestin moyen d'**Antheraea assama** par comparaison à celles des deux autres espèces de vers à soie grâce à la documentation disponible.*

INTRODUCTION

Antheraea assama est un insecte semi domestiqué, polyvoltin, polyphage qui a environ six générations par an (Seitz, 1933). L'insecte est propre à l'Assam et à d'autres états du nord est de l'Inde et jusqu'à présent on n'a pas pu l'élever dans d'autres parties du pays.

On a rapporté que les conditions environnementales telles que les variations saisonnières influencent la croissance et le développement, le poids de la coque, la fécondité etc... de l'insecte et la dévidabilité de la soie (Thangavelu et Sahu, 1986 ; Yadav et Goswami, 1999).

A l'inverse de nombreuses espèces de vers à soie *Antheraea assama* (ver à soie muga) n'a pas pu être domestiqué avec succès et on procède surtout à son élevage commercial à l'extérieur, ce qui soumet les vers à des contraintes environnementales telles que la pluie, la grêle et un certain nombre de prédateurs naturels comme les oiseaux.

Par le passé, plusieurs tentatives réalisées pour élever le ver à l'intérieur n'ont pas été encourageantes en raison d'un certain nombre de problèmes dont l'alimentation, la digestion et l'assimilation de la nourriture, etc... (Thangavelu et Sahu, 1986). Il est raisonnable et essentiel de connaître en détail le comportement alimentaire, la physiologie alimentaire, la digestion et la spécialisation des caractéristiques structurales des organes associés du ver à soie muga avant

* Auteur auquel adresser la correspondance.

d'entreprendre l'élevage à l'intérieur. Il est surprenant de constater qu'il existe très peu d'études morphologiques, anatomiques et ultrastructurales de base chez le ver à soie muga (Hazarika et Bordoloi, 1998 ; Dey et coll., 1997 ; Dey, 1999 ; Dey et coll., 1999 ; Dey et coll., 2002) et ces lacunes dans les connaissances sont l'une des raisons expliquant les succès moins importants des expériences avec le ver dont l'élevage à l'intérieur. Une étude récente publiée par notre laboratoire a présenté certaines caractéristiques structurales uniques de l'intestin moyen du ver à soie muga qui ont probablement un impact direct sur l'élevage à l'intérieur (Dey et coll., 1999). Une autre étude que nous avons réalisée montre une structure sensorielle unique qui gouverne la position au cours de l'alimentation et finalement la physiologie digestive (Dey et coll., 2002).

Dans le cadre de nos études en cours sur l'ultrastructure du ver à soie muga concernant son eco-physiologie, le travail présenté ici se penche sur les caractéristiques des trachéoles, en particulier sur leur distribution, leur dimension etc... On les a comparées avec celles des autres espèces qui sont domestiquées. On a étudié le système trachéolaire parce qu'il est lié à la capacité de diffusion du dioxyde de carbone et de l'oxygène dans le tissu auquel il est associé. Cela s'est révélé d'autant plus important parce que la littérature a récemment reconnu le rôle des éléments trachéolaires dans la consommation locale d'oxygène (Schmitz et Perry, 1999).

MATERIELS ET METHODES

Dans ce travail, nous utilisons l'intestin moyen de larves du 5^{ème} âge matures de l'espèce de ver à soie muga semi domestiqué *Antheraea assama* (ver à soie muga), du ver à soie domestiqué *Bombyx mori* (ver à soie du mûrier) et de l'espèce domestiquée *Samia ricini* (ver à soie eri). On obtient les larves matures des trois espèces de ver à soie respectivement du Central Silk Board Extension Center, à Nongpoh, dans le Meghalaya, de la Ferme d'Etat des mûriers de Shillong et de la Ferme d'état de l'eri de Nongpoh. On coupe les échantillons de l'intestin moyen en petits morceaux et on les fixe pendant quatre heures à 4° C dans du glutaraldéhyde à 3 % préparé dans un tampon de cacodylate de sodium à 0,1 M (pH 7,2). On lave soigneusement les échantillons fixés avec un tampon de cacodylate de sodium à 0,1 M au pH de 7,2 et on les post fixe dans du tetroxide d'osmium à 1 % dans le même tampon pendant 1 h à 4 ° C. On déshydrate les échantillons dans une série graduée d'acétone vers de l'oxyde de propylène et on les inclut dans de l'Araldite dans des capsules. Les morceaux de tissu inclus dans le plastique sont réorientés et on effectue des coupes ultra fines (600 – 900Å) avec un ultra microtome RMC, MT-X, avec un couteau à pointe de diamant. On recueille les coupes sur une grille en cuivre et on les colore dans une solution aqueuse d'uranyl-acétate à 5 % pendant 10 minutes à 40° C puis dans du citrate de plomb (Reynolds, 1963). On examine les coupes avec un microscope électronique JEM 100CXII à transmission (Jeol) à un voltage de 80kV.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Forme des trachéoles et distribution :

L'analyse des trachéoles des cellules de l'intestin moyen révèle certaines différences par la microscopie électronique à transmission entre les trois espèces de vers à soie étudiées. Chez *Bombyx mori* (ver à soie du mûrier), les trachéoles sont principalement de forme oblongue et ne sont pas concentrées dans une zone particulière et elles présentent un type de distribution dispersée (Fig. 1, 4). La situation est similaire chez *Samia ricini* (ver à soie eri) chez qui les trachéoles sont principalement oblongues avec quelques trachéoles ovales ou rondes, on remarque aussi que leur distribution est dispersée (Fig. 2, 5). En revanche, l'intestin moyen d'*Antheraea assama* (ver à soie muga) présente surtout des trachéoles ovales ou rondes et leur distribution est concentrée (Fig. 3, 6). La littérature récente a fait part de l'importance du système trachéolaire et du rôle du volume des trachéoles dans la capacité de diffusion de l'oxygène et du dioxyde de carbone (Schmitz et Perry, 1999). On a aussi signalé que la capacité de diffusion latérale de l'oxygène et du dioxyde de carbone est différente chez

différentes classes de trachées (en fonction de leur diamètre). Cela signifie que la forme et la taille des trachées, qui déterminent leur volume, sont importantes pour comprendre la capacité de diffusion pour la respiration des tissus.

Les différences de distribution des trachéoles dans l'intestin moyen des trois espèces de ver à soie suggèrent que le besoin en oxygène pour la respiration des tissus n'est pas le même chez les trois espèces de ver à soie. Le type de distribution dispersé des trachéoles dans les cellules de l'intestin moyen de *Samia ricini* et de *Bombyx mori* indique que leur besoin en consommation d'oxygène locale n'est pas très élevé. En revanche, la distribution localisée des trachéoles chez le ver à soie muga *Antheraea assama* suggère qu'il a une demande en oxygène plus importante pour la respiration des tissus locaux. Dans ce contexte, on doit noter que la suppression du développement des pigments respiratoires au cours de l'évolution des insectes terrestres pourrait avoir augmenté l'importance relative des petits éléments trachéolaires pour la consommation d'oxygène locale (Schmitz et Perry, 1999).

Un travail très récent réalisé sur les niveaux d'oxygène dans la lumière de l'intestin d'insectes herbivores suggère que la plupart des chenilles ont de faibles niveaux en oxygène dans leur intestin sauf celles dont l'intestin a un diamètre plus grand (Johnson et Barbehenn, 2000). Nos observations sur la distribution concentrée des trachéoles dans l'intestin moyen d'*Antheraea assama* par opposition à la distribution dispersée des trachéoles chez *Samia ricini* et *Bombyx mori* suggèrent qu'*Antheraea assama* a un degré plus important de consommation locale d'oxygène. Dans ce contexte, on doit noter que le diamètre de l'intestin d'*Antheraea assama* est plus grand que celui de *Samia ricini* et de *Bombyx mori* (Tableau II).

2. Taille et nombre des trachéoles :

Quand on fait des comparaisons sur la taille moyenne (diamètre le plus grand et le plus petit) des trachéoles distribuées dans l'intestin moyen des trois espèces de ver à soie, on observe que le diamètre le plus grand est compris entre 1 et 6 μ chez *Bombyx*, 0,3 et 4,7 μ chez l'eri et 0,25 et 1,9 μ chez le ver à soie muga. Le diamètre le plus faible des trachéoles est compris chez le ver à soie du mûrier entre 0,2 et 0,7 μ , chez l'eri entre 0,3 et 0,75 μ et chez le muga entre 0,25 et 1,1 μ (Tableau I). Ces observations suggèrent que bien que certaines trachéoles très larges soient présentes chez le ver à soie du mûrier et le ver à soie eri, il n'existe pas de trachéoles aussi larges chez le ver à soie muga. En ce qui concerne le diamètre le plus faible, chez le mûrier et l'eri il est plus ou moins le même, tandis que chez le muga, le diamètre le plus faible de certaines des trachéoles est plus grand par comparaison. En fait, le ver à soie muga présente plus ou moins des trachéoles rondes et ainsi il existe peu de variation entre leur diamètre le plus grand et le plus faible pour une trachéole donnée. Cependant, les fourchettes pour la taille du diamètre montrent qu'il y a des trachéoles rondes à la fois petites et grandes dans l'intestin moyen du ver à soie muga tandis que chez les deux autres espèces, ce sont les trachéoles allongées qui sont les plus nombreuses. La présence de trachéoles plus petites et leur concentration plus élevée à certains endroits semble être significatives puisqu'on sait que les petites trachéoles d'environ 2 μ de diamètre représentent 70 % de la capacité de diffusion de l'oxygène et 60 % de celle du dioxyde de carbone (Johnson et Barbehenn, 2000). Dans cette étude, nous n'avons pas trouvé de différences significatives concernant le diamètre le plus étroit des trachéoles entre les trois espèces de vers à soie. Cependant, les trachéoles plus larges des vers à soie eri et mûrier suggèrent qu'un nombre plus faible de trachéoles peut répondre aux besoins en oxygène d'une grande surface des cellules dans l'intestin moyen. C'est parce que les vers ont une demande inférieure en oxygène dans l'intestin en raison de leur plus petite taille (Johnson et Barbehenn, 2000). D'autre part, chez le ver à soie muga, la forme ronde des trachéoles, leur concentration dans une zone localisée ainsi que leur plus grand diamètre suggèrent que leur système trachéolaire est mieux développé par comparaison à celui du ver à soie du mûrier et de l'eri. Cela vient sûrement de la demande plus élevée en oxygène dans l'intestin du ver à soie muga en raison de son intestin de plus grande taille (Johnson et Barbehenn, 2000). En ce qui concerne le nombre de trachéoles, sous un grossissement identique,

on observe que dans la même zone des cellules de l'intestin moyen, le nombre de trachéoles est bien plus élevé chez le ver à soie muga par comparaison aux vers à soie eri et du mûrier (Tableau I).

3. Structure détaillée des plis ténidiens dans le système trachéolaire :

La comparaison de la structure détaillée des plis ténidiens dans les trachées d'*Antheraea assama*, de *Bombyx mori* et de *Samia ricini* montre que chez *Bombyx mori*, les plis ténidiens sont marqués et continus (Fig. 5) tandis que chez *Samia ricini* la paroi trachéolaire est lisse (Fig. 6). Cependant, la paroi des trachéoles porte de petits tubercules. D'autre part, chez *Antheraea assama* certaines trachéoles présentent des plis ténidiens marqués mais pas autant que ceux de *Bombyx mori* tandis que certaines trachéoles ont des parois plus ou moins lisses (Fig. 4). On a rapporté que des plis ténidiens marqués constituent un mécanisme de renforcement aux taenidia de sorte qu'elles peuvent résister à la compression et à l'effondrement radiaux. On a aussi rapporté que les plis ténidiens marqués n'existent pas souvent et on ne les trouve que dans le tronc trachéal le plus robuste de certaines espèces (Smith, 1968). Dans une étude sur la structure détaillée des trachées et des trachéoles associées à la glande pro-thoracique du papillon à soie (Beaulaton, 1964), il s'avère que les troncs les plus grands possèdent, en plus du fil ténidien, une autre structure cuticulaire dont une couche continue d'endocuticule. Bien que les trachées avec des plis ténidiens marqués peuvent résister à la compression et à l'effondrement, elles ne sont pas idéales pour le transfert d'oxygène. Cela est dû au fait que la plus grande partie du transfert d'oxygène a lieu à partir des trachéoles à paroi fine puisqu'elles minimisent la distance de diffusion entre elles et les cellules respiratoires. Il apparaît donc, que bien que la force structurelle ténidienne ait certains avantages pour *Bombyx mori*, elle a certaines limitations pour la diffusion de l'oxygène. Cela prouve que *Bombyx mori* n'a pas besoin d'une respiration importante des tissus dans l'intestin. La taille plus petite de l'intestin de *Bombyx mori* confirme cela. La paroi trachéolaire fine et lisse chez *Samia ricini* pourrait être idéale pour le transfert de l'oxygène mais elle présente aussi comme inconvénient l'incapacité de résister à la compression et à l'effondrement radiaux. Cela suggère que l'insecte n'a pas développé le système trachéal dans l'intestin au plus grand degré possible pour la meilleure utilisation. Cela est probablement dû au fait que la demande en oxygène dans l'intestin n'est pas très élevée chez *Samia ricini*. La largeur relativement petite de l'intestin suggère cela.

En revanche, la présence de trachéoles à paroi lisse ainsi que de trachéoles aux plis ténidiens marqués chez *Antheraea assama* suggère que le système trachéolaire bien développé dans l'intestin a pris en compte la compression et l'effondrement radiaux résistants et la diffusion homogène de l'oxygène.

CONCLUSION

Notre étude suggère que le système des trachéoles dans l'intestin moyen d'*Antheraea assama* est bien mieux développé par comparaison à ceux des autres espèces. Cela est probablement associé à une demande en oxygène plus importante pour la respiration des tissus, comme le suggère l'intestin plus grand d'*Antheraea assama* par comparaison à celui de *Bombyx mori* et *Samia ricini* (Johnson et Barbehann, 2000).

BREEDING THE NEW BULGARIAN SEX-LIMITED FOR LARVAL MARKINGS SILKWORM *BOMBYX MORI* L. COMMERCIAL HYBRID ZE/4 AND STUDY ON ITS PERFORMANCE IN THE PHILIPPINES AND BULGARIA

P. I. TZENOV¹ & Z. I. DE GUZMAN²

1. Sericulture Experiment Station, 24 Mito Orozov Str., Vratza 3000, Bulgaria
2. Department of Science and Technology, Philippine Textile Research Institute, Gen. Santos Avenue, Bicutan Taguig, Metro Manila, Philippines 1631.

The present study has been undertaken in order to develop a methodology for creation of sex-limited analogues of the already selected hardy pure lines/commercial hybrid, aiming at shortening the breeding process and at obtaining an easier and more effective silkworm egg production.

The study has been carried out during the period 1998 – 2003 at Sericulture Experiment Station, Vratza, Bulgaria and in 2002-2003 in the Department of Science and Technology, of the Philippine Textile Research Institute, in the Philippines.

The breeding process started in the spring season of 1998 at Sericulture Experiment Station – Vratza and 3 generations were reared each year for four years.

The breeding strategy aimed at using the existing pure lines, parents of the hardy commercial hybrid (Hesa 1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2) as well as four sex-limited for larval markings breeds introduced from Japan in order to create new sex-limited lines, having similar quantitative characters values to those of the parental pure lines of the commercial hybrid.

The breeding method was based completely on the back crosses and by using 4 new lines, namely SN1, Iva 1, Nova 2 and Magi 2, analogues of the pure lines Hesa 1, KK, Vesletz 2 and Gergana 2 but sex limited for larval marking.

From the above study it is concluded that out of 8 possible four-way hybrids tested 4 of them had sex-limitation. However only the hybrid (SN1 × Iva1) × (Magi2 × Nova2) manifested sex-limitation in both straight and opposite crosses.

100 % female larvae with zebra markings were detected in this hybrid, called Ze 4. However about 50 % of these zebra marked larvae had also normal markings on the skin and the other 50 % of the larvae did not have any other markings except for the zebra. In the male larvae about 50 % were with normal markings and the rest were plain. This segregation was detected both in the straight (Ze4/1) and in the opposite (Ze4/2) cross. In fact the segregation was the same in the both sexes, but in the females it seemed to be like "hidden" by the zebra markings.

In the crosses between sex-limited for larval markings breeds in all the cases when the mother parent had the zebra markings the sex-limitation in the progeny was preserved. The reason is because the zebra marking dominates over the normal marking and the plain.

It could be concluded that by using 11 backcrosses, combined with proper selection methods 4 new silkworm sex-limited for larval markings pure lines were created, having similar qualitative and quantitative characters values to those in the original pure lines recognized by the government and widely adopted commercial hybrid (Hesa1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2) in the field.

We could conclude that by using the methodology described in this paper a new sex-limited analogue of the commercial hybrid recognized by the government and adopted in the field was created.

The testing of the new hybrid Ze 4 manifested sufficient productive characters values for the Philippines (a tropical country) and for the unfavorable summer and autumn seasons in Bulgaria (a temperate country).

We can conclude that the new Bulgarian hybrid Ze 4 can easily adapt to Philippines agro-climatic conditions.

Keywords: Silkworm *Bombyx mori* L., sex-limited for larval markings lines, breeding, hybridization.

INTRODUCTION

It has to be stated with sufficient reason, that nowadays successes in the worldwide silkworm science and practice are built just on the most rationalized utilization of heterosis and hybridization (Tazima, 1964; Kantaratanarul *et al.*, 1987; Jeong *et al.*, 1990; Singh *et al.*, 1990; Osawa and Harada, 1994; Braslavskii *et al.*, 1997).

It is well known that the main reason for using sex - limited silkworm lines is in the aim of obtaining easier and more effective silkworm egg production, especially the sex discrimination. The first attempts to create sex-limited silkworm breeds were made by Tichomirov (1891), followed successfully by other researchers like Astaurov (1933), Tazima (1944), Hasimoto (1948), Lee *et al.* (1989) etc.

The first silkworm strain, having marked female larvae and plain male was created by Tazima (1944) by treatment of newly laid silkworm eggs with X-rays and translocation of the P+ allele and its connection with the sex W chromosome. Later, using the same method Hasimoto (1948) managed to create a new sex-limited breed having zebra female and plain male larvae.

In the recent time the efforts of silkworm breeding at Sericulture Experiment Station in Vratza, Bulgaria were directed at creating lines/hybrids having higher tolerance to adverse rearing conditions. The reasons were the necessity to intensify the cocoon production in Bulgaria by adoption of summer and autumn rearing as well as the possibilities to export silkworm eggs to some tropical countries.

As a result a new hardy silkworm four-way commercial hybrid (Hesa 1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2) was selected, authorized by the government in 1999 and widely adopted in the field during the period 2000-2003.

In order to improve the silkworm egg production technology we came to the idea of using the parental pure lines of the already created hybrid for breeding new sex-limited for larval markings pure lines. It was expected that if we use the backcrossing method combined with a proper selection the newly bred sex-limited pure lines would demonstrate similar qualitative and quantitative characters values to those of the parental pure lines of the commercial hybrid.

The present study has been undertaken in order to develop a methodology for creation of sex-limited analogues of the already selected hardy pure lines/commercial hybrid, aiming at shortening the breeding process and at obtaining an easier and more effective silkworm egg production.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out during the period 1998 – 2003 at Sericulture Experiment Station, Vratza, Bulgaria and in 2002-2003 at the Department of Science and Technology, of the Philippine Textile Research Institute, the Philippines.

Initial material for silkworm breeding:

The following silkworm breeds/lines were used as initial material in the breeding process: KK, NIG-1, Hesa 1, Ze Aojuku, Gergana 2, Ze Chinese 108, NIG- 2 and Vesletz 2. The qualitative characteristics and origin of the initial and newly selected breeds/lines are shown in Table I.

The lines Hesa 1, KK, Gergana 2 and Vesletz 2 are parents of the Bulgarian four-way commercial silkworm hybrid (Hesa 1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2), which has been specially selected to be tolerant to rearing under adverse conditions.

Methodology of the breeding process:

The breeding process was started in the spring season of 1998 at Sericulture Experiment Station – Vratza and 3 generations were reared each year for four years.

The breeding strategy aimed at using the existing pure lines, parents of the hardy commercial hybrid (Hesa 1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2) as well as four sex-limited for larval markings breeds introduced recently from Japan in order to create new sex-limited lines, having similar qualitative and quantitative characters values to those of the parental pure lines of the commercial hybrid.

The breeding method was based completely on the back crosses and by using 4 new lines, namely SN1, Iva 1, Nova 2 and Magi 2, analogues of the pure lines Hesa 1, KK, Vesletz 2 and Gergana 2, but sex -limited for larval marking.

Since the breeding methodology was one the same in all the 4 lines, here we give an example only with the breeding of the line Iva 1:

Step 1: Initial population: cross between females of **Nig 1** (sex limited for larval marking-female marked, male plain, cocoons of Japanese type- elongated with constriction) and males of **KK** (having plain larvae, cocoons of Japanese type- elongated with high constriction).

Step 2: Backcrosses for 9 generations, using females of the above initial population, mated with selected males of the line KK and mass rearing.

Step 3: Backcrosses for other 3 generations, but with batch rearing.

Step 4: New silkworm line : **Iva 1**, maintained every year by batch rearing and using selected female individuals only, mated with selected males of the line KK.

Practically the selection was made only with the female individuals of Iva 1, using selected males of KK. In this case the basic pure line (KK) was maintained in big volume, allowing to make the necessary selection and the sex-limited analogue Iva 1 was maintained in lower volume (8-10 batches during rearing).

Main criteria for the desired level of breeding characters and selection:

The breeding targets were generally the following:

Japanese type lines: Sex-limited for larval markings, elongated with constriction shaped cocoons, white in color.

Chinese type lines : Sex-limited for larval markings, oval and cocoons white in color.

Hatchability: As high as possible. Checked individually.

Larval duration: 25-26 days. Checked for the laying.

Fifth instar duration: 5.5-6.5 days. Checked for the laying.

Pupation rate: As high as possible. Checked for the laying.

Number of normal eggs in the laying: More than 550. Checked individually.

Weight of the normal eggs in the laying: More than 0.330 g. Checked individually.

Good quality cocoons: more than 95 %. Checked for the laying.

Fresh cocoon weight: The layings/individuals having the highest or medium cocoon weight for the breed were selected. Checked for the laying first and after that individually.

Cocoon shell weight: the layings/individuals, having the highest shell weight for the breed, the highest or average cocoon weight and the highest or average shell percentage were selected. Checked for the laying and individually.

Shell percentage: The layings/individuals, having the highest or average shell percentage for the breed were selected. Checked for the laying and individually.

Fresh cocoon yield by 1 box of eggs: The layings having the highest values were selected. Checked for the laying.

Filament length:

This character was checked during the primary evaluation of the initial population for breeding and every year/generation during the breeding process. During the primary evaluation only populations having total cocoon filament length of more than 950 m and unbreakable filament length of more than 800 m were selected. During the breeding process if any line showed values of the trait less than the limit for more than 2 generations, it was rejected.

Raw silk percentage:

This character was checked during the primary evaluation of the initial population for breeding and every year/generation during the breeding process. During the primary evaluation only populations having raw silk percentage of more than 39 % (calculated based on dried cocoon weight) were selected. During the breeding process if any line showed values of the trait less than the limit for more than 2 generations, it was rejected.

Methodology of study of the inheritance of the larval markings and sex-limitation in the different crosses:

In order to determine the way of crosses giving sex-limitation for larval markings in P1 and F1 silkworm egg categories all the possible hybrid combinations (Table II) were tested.

Each line and hybrid was reared in a volume of 3 separate batches. During the fifth instar the larvae within each batch were separated according to their larval marking. The larvae of each group were counted and their cocoons were spun separately in order to check the sex of the group at pupal stage.

Methodology for checking the differences between the original breeds, newly bred sex-limited silkworm lines and the pure lines, used for back-crossings, at different generations of the back-cross:

From the 4th and 11th backcross generations of the newly selected lines SN1, Iva 1, Magi 2 and Nova 2, representative samples consisting of 24 egg batches from each line were taken and maintained separately following the "Methodology for maintenance of silkworm accessions" (Tzenov and Vasileva, 2002).

The breeds Ze Aojuku, Ze Chinese 108, NIG-1 and NIG-2 were maintained according to the same methodology.

The pure lines Hesa 1, KK, Gergana 2 and Vesletz 2 were maintained following the "Methodology for silkworm pure lines maintenance" described by Tzenov and Vasileva (2002).

All the breeds and lines were tested simultaneously twice in the spring seasons of 2002 and 2003 under standard rearing conditions (Kipriotis *et al.*, 1999). Each breed/line was tested in a volume of 8 batches, consisting of 250 larvae each, counted after the 2nd molt.

Table I. Characteristics of the silkworm breeds used in the breeding process.**Tableau I. Caractéristiques des lignées de ver à soie utilisées dans le processus de lignage.**

Silkworm breed	Origin	Egg serosa color	Egg chorion color	Larval markings	Cocoon color and shape	Special characteristics
<i>Lignée de ver à soie</i>	<i>Origine</i>	<i>Couleur de la séreuse de l'oeuf</i>	<i>Couleur du chorion de l'oeuf</i>	<i>Marquages larvaires</i>	<i>Couleur et forme du cocon</i>	<i>Caractéristiques spéciales</i>
Nig 1 (the basic sex-limited breed)	Japan	Gray	White	Marked and plain	White; Elongated with low constriction	Sex limited for larval marking, female marked, male plain; ability for feeding on artificial diet.
<i>Nig 1 (lignée de base limitée au sexe)</i>	<i>Japon</i>	<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Marqué et uni</i>	<i>Blanc, allongé avec un faible resserrement</i>	<i>Limité au sexe pour le marquage larvaire</i> <i>Femelle marquée;</i> <i>Mâle uni. Capacité à se nourrir sur milieu artificiel.</i>
KK (the line used for backcross)	Separation from South Korean hybrid, Bulgaria	Gray, green, brown.	White, yellow	Plain	White; Elongated with high constriction	Tolerant to high temperature.
<i>KK (lignée utilisée pour le croisement de retour)</i>	<i>Séparation d'un hybride sud-coréen; Bulgarie.</i>	<i>Gris, vert, marron.</i>	<i>Blanc, jaune</i>	<i>Uni</i>	<i>Blanc, allongé avec un fort resserrement</i>	<i>Tolérant une température élevée.</i>
Iva 1 (the newly selected pure line)	Nig 1 × KK Bulgaria	Gray, green, brown	White, yellow	Marked and plain	White, Elongated with high constriction	Sex limited for larval marking - female, marked, male plain.
<i>Iva 1 (la nouvelle lignée pure sélectionnée)</i>		<i>Gris, vert, marron</i>	<i>Blanc, jaune</i>	<i>Marqué et uni</i>	<i>Blanc, allongé avec un resserrement marqué</i>	<i>Limité au sexe pour le marquage larvaire</i> <i>- Femelle marquée,</i> <i>Mâle marqué</i>

Table 1. Continued / Tableau 1. (Suite).

Ze Aujuku (the basic sex-limited breed).	Japan	Deep gray	White	Zebra and marked with constriction	White, Elongated	Sex limited for larval marking-female zebra, male marked
<i>Ze Aujuku (la lignée de base limitée au sexe)</i>	<i>Japon</i>	<i>Gris foncé</i>	<i>Blanc</i>	<i>Zébré et marqué avec un resserrement</i>	<i>Blanc, allongé</i>	<i>Limité au sexe pour le marquage larvaire - femelle zébrée, mâle marqué.</i>
Hesa 1 (the line used for backcross)	No.1050 Chungetsu, Bulgaria	Gray	White.	Marked	White, Elongated with constriction	Tolerant to adverse rearing conditions.
<i>Hesa 1 (lignée utilisée pour le croisement de retour)</i>		<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Marqué</i>	<i>Blanc, allongé</i>	<i>Tolérant des conditions d'élevage adverses.</i>
SNI (the newly selected pure line)	Ze Aojuku × Hesa 1, Bulgaria	Gray	White	Zebra and marked	White, Elongated with constriction	Sex limited for larval marking-female zebra, male marked.
<i>SNI (nouvelle lignée pure sélectionnée)</i>		<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Zébré et marqué</i>	<i>Blanc, allongé avec un resserrement</i>	<i>Limité au sexe pour le marquage larvaire - femelle zébrée, Mâle marqué.</i>
Ze-Chinese 108 (the basic sex-limited breed)	Japan	Gray	White	Zebra and plain	White; Elongated Oval	Sex limited for larval markings- female zebra, male plain.
<i>Ze-Chinese 108 (Lignée de base limitée au sexe)</i>	<i>Japon</i>	<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Zébré et uni</i>	<i>Blanc, allongé, ovale</i>	<i>Limité au sexe pour les marquages larvaires - Femelle zébrée, mâle uni.</i>
Gergana 2 (the line used for backcross)	No. 1040 Shinpaku, Bulgaria	Gray	White	Plain	White, oval.	Tolerant to adverse rearing conditions.
<i>Gergana2 (lignée utilisée pour le croisement de retour)</i>		<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Uni</i>	<i>Blanc, ovale</i>	<i>Tolérant des conditions d'élevage adverses.</i>

Table 1. (Continued) / Tableau 1. (Continued).

Magi 2 (the newly selected pure line)	Ze Chinese 108 × Gergana 2 Bulgaria	Gray	White	Zebra and plain	White, oval	Sex limited for larval marking – female zebra, male plain
<i>Magi 2 (nouvelle lignée pure sélectionnée)</i>		<i>Gris</i>	<i>Blanc</i>	<i>Zébré et uni</i>	<i>Blanc, ovale</i>	<i>Limitée au sexe pour le marquage larvaire femelle zébrée, mâle uni.</i>
Nig 2 (the basic sex-limited breed)	Japan	Gray-green	Yellow	Marked and plain.	White, oval.	Sex limited for larval marking – female marked, male plain; ability for feeding on artificial diet.
<i>Nig 2 (lignée de base limitée au sexe)</i>	<i>Japon</i>	<i>Gris, vert</i>	<i>Jaune</i>	<i>Marqué et uni</i>	<i>Blanc, ovale</i>	<i>Limitée au sexe pour le marquage larvaire femelle marquée, mâle uni; capacité à se nourrir sur milieu artificiel.</i>
Vesletz 2 (the line used for backcross)	No. 1080 Choan, Bulgaria	Gray, green	Yellow, white.	Plain	White; oval	Tolerant to high temperature.
<i>Vesletz 2 (lignée utilisée pour le croisement de retour)</i>		<i>Gris, vert.</i>	<i>Jaune, blanc.</i>	<i>Uni</i>	<i>Blanc, ovale.</i>	<i>Tolérant une température élevée</i>
Nova 2 (the newly selected pure line)	Nig 2 × Vesletz 2 Bulgaria	Gray-green	Yellow	Marked and plain	White; oval	Sex limited for larval marking – female, marked, male plain.
<i>Nova 2 (nouvelle lignée pure sélectionnée)</i>		<i>Gris – vert</i>	<i>Jaune</i>	<i>Marqué et uni</i>	<i>Blanc, ovale</i>	<i>Limitée au sexe pour le marquage larvaire – femelle marquée, mâle uni</i>

Methodology for testing the new sex-limited for larval markings hybrid Ze 4:

The silkworm eggs of the new hybrid Ze 4 were produced during the summer season of 2002 as loosing eggs in one lot. A part of them were treated by HCL in order to break the diapause and the larvae were reared during the autumn season (Sep-Oct) of 2002 at Sericulture Experiment Station (SES) – Vratza. Acid treated eggs were also sent for testing in the Philippines in Oct-Nov of 2002 and Jan-Feb., Apr-May of 2003. In the Philippines the climatic conditions of TC, Benguet are semi-temperate with annual temperature range of 8°C-27°C, while the climatic conditions of TC, Misamis Oriental are tropical with annual temperature of 18°C-35°C.

The other part of the eggs after passing through the diapausing period were tested during the spring and summer seasons of 2003 at SES-Vratza.

In order to compare the main quantitative characters values between the newly selected hybrid Ze 4 and the original hybrid (Hesa 1 × KK) × (Gergana 2 × Vesletz 2) both hybrids were reared under the standard regime (Kipriotis *et al.*, 1999) during the spring and summer seasons of 2003.

Each hybrid was reared in 4 replicates, consisting of 250 larvae, counted after the 2nd molt.

The data obtained were calculated on the basis of adopted and unified international methods and were analyzed statistically (Lidansky, 1988).

RESULTS AND DISCUSSION

The sex-limitation inheritance in the different crosses is shown in Table II.

It is evident from the table that at the P1 level (parents of the four-way hybrid), only the cross Iva 1 × SN1 lost its sex-limitation and all the rest 3 crosses were sex-limited. In the cross SN1 × Iva 1 all the female larvae had both zebra and normal markings, while in the cross Magi 2 × Nova 2 the female larvae manifested zebra markings only.

Out of 8 possible four-way hybrids tested, 4 of them had sex-limitation. However only the hybrid (SN1b × Iva 1) × (Magi2 × Nova2) manifested sex-limitation in both straight and the opposite crosses. Since one of the purposes of the breeding process was to create not only sex-limited pure lines, but F1 commercial hybrid as well, the cross (SN1 × Iva 1) × (Magi2 × Nova2) and the opposite was chosen to be used for commercial hybridization and the hybrid was called “Ze 4”.

This hybrid manifested 100 % female larvae with zebra markings. However about 50 % of these zebra marked larvae had also normal markings on the skin and the other 50 % of the larvae did not have any other markings except for the zebra. In the male larvae about 50 % were with normal markings and the rest were plain. This segregation was detected both in the straight (Ze4/1) and in the opposite (Ze4/2) cross.

In fact the segregation was one the same in both sexes, but in the females it seemed to be like “hidden” by the zebra markings.

From the data presented in Table II, it could be concluded also that in the crosses between sex-limited for larval markings breeds in all the cases when the mother parent has the zebra markings the sex-limitation in the progeny is preserved. The reason is because the zebra marking dominates over the normal marking and the plain. Therefore the commercial hybrid Ze 4 could be used as a source for sex-limitation of other silkworm breeds, following the method described in this paper.

It is evident from Table III that the sex-limited Japanese breeds Ze Aojuku and Ze Chinese 108 were characterized with low viability and productivity, while the breeds NIG-1 and NIG – 2 had normal values of the main breeding traits.

As a result of the correct breeding methods at the 11th generation of the backcross the newly selected sex-limited lines SN1, Iva1, Magi2 and Nova 2 manifested significantly higher pupation rate and productivity than the original sex-limited Japanese breeds. In most of the characters studied the new sex-limited lines surpassed even the pure lines used for the backcross. We could explain this surpassing by the possible availability of some heterosis expression due to the method of silkworm breeding and maintenance.

Table II. Inheritance of the larval markings and sex-limitation in the different crosses.

Tableau II. Héritéité des marquages larvaires et limitation au sexe dans les différents croisements.

Crosses	Genotype of the parents	Larval marking of the parents	Larval marking in the progeny				Result concerning the sex limitation in the progeny
			Female		Male		
			Kind of markings	Genotype	Kind of markings	Genotype	
			Marquage larvaire de la descendance				
Croisements	Génotype des parents	Marquages larvaires des parents	Femelle		Mâle		Résultat concernant la limitation au sexe dans la descendance
			Type de marquages	Génotype	Type de marquages	Génotype	
SN1 × Iva 1	SN1-Ze*/p+/p+ Iva 1-p/p	Zebra × plain Zébré × marqué	Zebra Zébré	Ze/p+/p	Marked Marqué	p+/p	Sex-limited Limitée au sexe
Iva 1 × SN1	Iva 1-p+/p/p SN1 -p+/p+	Marked × marked Marqué × marqué	Marked Marqué	p+/p+/p	Marked Marqué	p+/p	Lost Perdue
Magi2 × Nova 2	Magi 2-Ze/p/p Nova 2-p/p	Zebra × plain Zébré × uni	Zebra Zébré	Ze/p/p	Plain Uni	p/p	Sex-limited. Limitée au sexe
Nova 2 × Magi 2	Nova 2-p+/p/p Magi 2-p/p	Marked × plain Marqué × uni	Marked Marqué	p+/p/p	Plain Uni	p/p	Sex-limited Limitée au sexe
(SN1 × Iva 1) × (Magi2 × Nova 2)	SN1 × Iva 1- Ze/p/p Magi 2 × Nova 2-Ze/p/p	Zebra × plain Zébré × uni	Zebra Zébré	50% Ze/p+/p; 50% Ze/p/p	50% marked; 50% plain 50 % marqué ; 50 % uni	p+/p;p/p	Sex-limited Limitée au sexe
(Iva 1× SN1) × (Magi 2 × Nova 2)	Iva 1 × SN 1- p+/p+/p Magi 2 × Nova 2- Ze/p/p	Marked × plain Marqué × uni	Marked Marqué	p+/p+/p	50% marked; 50% plain 50 % marqué ; 50 % uni	p+/p;p/p	Lost Perdue

Table II. (Continued) / *Tableau II (Suite).*

(SN1 × Iva 1) × (Nova 2 × Magi 2)	SN1 × Iva 1- Ze /p+/p Nova 2 × Magi 2-p/p	Zebra × plain <i>Zèbré × uni</i>	Zebra <i>Zèbré</i>	50% Ze /p+/p; 50% Ze /p/p	50% marked; 50% plain <i>50 % marqué ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Sex-limited <i>Limitée au sexe</i>
(Iva 1 × SN1) × (Nova 2 × Magi2)	Iva 1 × SN 1- p +/p+/p Nova 2 × Magi 2-p/p	Marked × plain <i>Marqué × uni</i>	Marked <i>Marqué</i>	50% p +/p+/p; 50% p +/p/p	50% marked; 50% plain <i>50 % marqué ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Lost <i>Perdue</i>
(Magi 2 × Nova 2) × (SN1 × Iva 1)	Magi 2 × Nova 2 2- Ze /p/p SN1 × Iva 1- p+/p	Zebra × marked <i>Zèbré × marqué</i>	Zebra <i>Zèbré</i>	50% Ze /p+/p; 50% Ze /p/p	50% marked; 50% plain <i>50 % marqué ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Sex-limited <i>Limitée au sexe</i>
(Magi 2 × Nova 2) × (Iva 1 × SN1)	Magi 2 × Nova 2 2- Ze /p/p Iva 1 × SN 1-p+/p	Zebra × marked <i>Zèbrée × marqué</i>	Zebra <i>Zèbré</i>	50% Ze /p+/p; 50% Ze /p+/p;	50% marked; 50% plain <i>50 % marqué ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Sex-limited <i>Limitée au sexe</i>
(Nova 2 × Magi 2) × (SN1 × Iva 1)	Nova 2 × Magi 2- p +/p/p SN1 × Iva 1- P+/p	Marked × marked <i>Marqué ×</i> <i>marqué</i>	Marked <i>Marqué</i>	50% p +/p+/p;	50% marked; <i>50% plain</i> <i>50 % marqué ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Lost <i>Perdue</i>
(Nova 2 × Magi 2) × (Iva 1 × SN 1)	Nova 2 × Magi 2- p +/p/p Iva 1 × SN 1- p+/p	Marked × marked <i>Marqué ×</i> <i>marqué</i>	Marked <i>Marqué</i>	50% p +/p+/p; 50% p +/p/p	50% marked; 50% plain <i>50 % marquée ;</i> <i>50 % uni</i>	p+/p;p/p	Lost <i>Perdue</i>

*the allele connected with the W chromosome is marked with "bold" / * l'allèle lié avec le chromosome W est marqué "en gras".

Table III. Differences between the original breeds, newly bred sex-limited silkworm lines and the pure lines, used for back-crossings at different generations of the back-cross.

Tableau III. Différences entre les lignées originelles, les lignées de vers à soie limitées au sexe venant d'être obtenues et les lignées pures, utilisées pour les croisements de retour pendant les différentes générations du croisement de retour.

Breed <i>Lignée</i>	Pupation rate (%) <i>Taux de nympheose (%)</i>	Fresh cocoon weight (g) <i>Poids du cocon frais (g)</i>	Cocoon shell weight (g) <i>Poids de la coque soyeuse (g)</i>	Cocoon shell percentage (%) <i>Pourcentage de richesse soyeuse (%)</i>
Ze Aojuku	88.48	1.128	0.095	8.42
Hesa 1	91.68***	1.895***	0.405***	21.37***
SN1 at 4 th backcross / SN1 au 4 ^{ème} croisement de retour	93.65***	1.820***	0.386***	21.20***
SN1 at 11th backcross SN1 au 11^{ème} croisement de retour	94.28***	1.900***	0.410***	21.56***
NIG-1	94.91	1.865	0.396	21.23
KK	92.26**	2.095*	0.392	18.73***
Iva 1 at 4 th backcross / Iva 1 au 4 ^{ème} croisement de retour	96.25	1.910	0.401	21.00
Iva 1 at 11th backcross Iva 1 au 11^{ème} croisement de retour	97.13*	2.122***	0.427*	20.10*
Ze Chinese 108	89.22	1.217	0.132	10.84
Gergana 2	94.14***	1.821***	0.349***	19.14***
Magi 2 at 4 th backcross Magi 2 au 4 ^{ème} croisement de retour	95.15***	1.720***	0.315***	18.32***
Magi 2 at 11th backcross Magi 2 au 11^{ème} croisement de retour	96.66***	1.820***	0.366***	20.13***
NIG-2	94.02	1.598	0.373	23.34
Vesletz 2	93.71	1.850**	0.359	19.39***
Nova 2 at 4 th backcross Nova 2 au 4 ^{ème} croisement de retour	94.78	1.640*	0.354	21.59**
Nova 2 at 11th backcross Nova 2 au 11^{ème} croisement de retour	96.55**	1.918***	0.416**	21.71**

* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

Remark: In each backcross the data were statistically analyzed towards the breeds Ze Aojuku, NIG-1, Ze Chinese 108 and NIG-2.

Remarque : Dans chaque croisement de retour, les données sont analysées de manière statistique par rapport aux lignées Ze Aojuku, NIG-1, ZE Chinese 108 et NIG-2.

It could be concluded that by using 11 backcrosses, combined with proper selection methods 4 new silkworm sex-limited for larval markings pure lines were created, having similar productive characters values to those in the original pure lines of the hybrid (Hesa1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2).

The observations, made on some qualitative characters like egg chorion and serosa color and cocoon shape (Table I) in the newly selected sex-limited lines manifested that they were the same than those in the original pure lines Hesa 1, KK, Gergana 2 and Vesletz 2.

The data concerning a comparison of the main productive characters values between the original F1 four-way hybrid and the new sex-limited for larval markings F1 hybrid Ze 4 are presented in Table IV. From the seven quantitative traits studied, only the fresh cocoon weight was significantly higher in the new sex-limited hybrid than in the original one, that confirmed the high extent of similarity between the two hybrids.

We could make the conclusion that by using the methodology, described in this paper a new sex-limited analogue recognized by the government and adopted in the field was created.

The data about performance of the commercial hybrid new sex-limited silkworm hybrid Ze4 in the Philippines and Bulgaria are shown in Tables V and VI.

Table IV. Comparison of the main productive characters values between the original F1 four-way hybrid and the new sex-limited for larval markings F1 hybrid.

Tableau IV. Comparaison des valeurs pour les principaux caractères productifs entre les hybrides originels F1 croisés de manière quadruple et les nouveaux hybrides F1 limités au sexe à marquages larvaires.

Hybrid	5 th instar duration (h)	Larval duration (h)	Pupation rate (%)	Fresh cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Shell percentage (%)	Fresh cocoon yield by one box of eggs (kg)
<i>Hybride</i>	<i>Durée du 5^{ème} âge (h)</i>	<i>Durée larvaire (h)</i>	<i>Taux de nymphose (%)</i>	<i>Poids du cocon frais (g)</i>	<i>Poids de la coque soyeuse (g)</i>	<i>Pourcentage de richesse soyeuse (%)</i>	<i>Rendement en cocons frais pour une boîte d'œufs (kg)</i>
(H1 × KK) (V2 × G2)	147	605	96.55	1.567	0.308	19.65	28.40
Ze 4/1	149	601	96.05	1.674	0.333	19.89	29.72
td	0.25	0.54	0.32	5.27***	1.80	0.15	1.75
(V2 × G2) × (H1 × KK)	151	605	96.10	1.636	0.320	19.56	30.20
Ze 4/2	147	601	95.75	1.723	0.354	20.55	29.97
td	0.28	0.63	0.29	4.97***	2.10	1.17*	1.23

* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < .001.

Table V. Testing the new sex-limited hybrid Ze4 in the Philippines.

Tableau V. Test du nouvel hybride limité au sexe Ze4 aux Philippines.

Silkworm hybrid / <i>Hybride de ver à soie</i>		ZE 4/1			ZE 4/2			
Rearing place / <i>Lieu d'élevage</i>		PTRI Technology Center, Benguet			PRTI Technology Center, Misamis Oriental			
Rearing date / <i>Date d'élevage</i>	Unit	Oct-Nov 2002	Apr-May 2003	Average	Oct – Nov 2002	Jan-Feb 2003	Average	Average for both crosses
Characters evaluated <i>Caractères évalués</i>	<i>Unité</i>			<i>Moyenne</i>			<i>Moyenne</i>	<i>Moyenne pour les deux croisements</i>
Incubation duration / <i>Durée d'incubation</i>	Days <i>Jours</i>	10	11	10.5	10	10	10	10.25
Hatching percentage / <i>% d'éclosion</i>	%	90	98	94	94	98	96	95
Larval duration / <i>Durée larvaire</i>	Days / <i>Jours</i>	28	26.5	27.25	21	25	23	25.13
Average single cocoon weight <i>Poids moyen d'un cocon</i>	g	1.580	1.340	1.460	1.540	1.840	1.690	1.575
Average single cocoon shell weight <i>Poids moyen d'une coque soyeuse</i>	g	0.311	0.272	0.292	0.334	0.360	0.347	0.320
Average cocoon shell percentage <i>Pourcentage moyen de richesse soyeuse</i>	%	19.68	20.37	20.00	21.69	19.90	20.53	20.32
Average number of cocoons per liter <i>Nombre moyen de cocons par litre</i>	Pcs	86	81	83.5	85	109	97	90.25
Average weight of cocoons per liter <i>Poids moyen des cocons par litre</i>	g	150	146	148	131	200	166	157
Average filament length <i>Longueur moyenne du filament</i>	m	901	992	947	814	739	777	862
Average filament size <i>Titre moyen du filament</i>	d	2.74	2.84	2.79	2.45	2.76	2.61	2.70
Average filament weight <i>Poids moyen du filament</i>	g	0.260	0.310	0.285	0.220	0.220	0.220	0.253
Raw silk percentage calculated on the basis of fresh cocoon <i>Pourcentage de soie grège calculé sur la base des cocons frais</i>	%	16.4	23.2	19.8	14.2	12.00	13.10	16.45

Table VI. Testing the new sex-limited hybrid Ze4 in Bulgaria.

Tableau VI. Test du nouvel hybride limité au sexe Ze4 en Bulgarie

Silkworm hybrid / <i>Hybride de ver à soie</i>		ZE 4/1				ZE 4/2				Average for both crosses
Rearing place / <i>Lieu d'élevage</i>		Sericulture Experiment Station- Vratza				Sericulture Experiment Station Vratza				
Rearing date / <i>Date d'élevage</i>	Unit	Sep - Oct 2002	May-June 2003	July-Aug 2003	Average	Sep - Oct 2002	May – June 2003	July-Aug 2003	Average	<i>Moyenne pour les deux croisements</i>
Characters evaluated/ <i>Caractères évalués</i>	Unité				<i>Moyenne</i>				<i>Moyenne</i>	
Hatching % / % d'éclosion	%	99.25	95.81	68.38	87.81	97.62	97.83	85.00	93.48	90.65
Larval duration / <i>Durée larvaire</i>	Days / <i>Jours</i>	27.25	25.21	24.83	25.76	27.33	25.21	24.83	25.79	25.78
5th instar duration / <i>Durée du 5^{ème} âge</i>	Days / <i>Jours</i>	7.25	6.33	5.92	6.50	7.33	6.33	5.92	6.53	6.52
Pupation rate / <i>Taux de nymphose</i>	%	96.17	93.30	98.80	96.09	95.32	95.60	95.90	95.61	95.85
Average single cocoon weight <i>Poids d'un cocon</i>	g	1.532	1.798	1.550	1.627	1.543	1.840	1.606	1.663	1.645
Average single cocoon shell weight <i>Poids moyen d'une coque soyeuse</i>	g	0.293	0.370	0.296	0.320	0.290	0.380	0.327	0.332	0.326
Average cocoon shell percentage <i>Pourcentage moyen de richesse soyeuse</i>	%	19.12	20.58	19.10	19.67	18.79	20.65	20.36	19.96	19.82
Fresh cocoon yield by one box of eggs <i>Rendement en cocons frais pour une boîte d'oeufs</i>	(kg)	26.99	32.28	27.15	28.81	26.95	32.91	27.03	28.96	28.89

In both countries the new hybrid manifested very high hatchability percentage of silkworm eggs. An exception was the hatchability in July in Bulgaria, due to the too long preservation period of the eggs after the break of diapause. The larval and fifth instar duration detected were comparatively short in both countries (25.13-25.78 days and 6.52 days respectively in average).

The average pupation ratio was comparatively high – more than 95 %. The testing in three different seasons in Bulgaria, where out of them two were unfavorable for silkworm rearing (autumn and summer) showed no any big differences in the pupation ratio, what manifested that the hybrid was comparatively tolerant to adverse rearing conditions.

The other quantitative characters investigated manifested sufficient productive values for the Philippines (a tropical country) and for the unfavorable summer and autumn seasons in Bulgaria (a temperate country).

In the Philippines the rearing of the new Bulgarian silkworm hybrid did not show any difficulty. We can conclude that the Bulgarian hybrid can easily adapt to Philippines agro-climatic conditions.

From the above study it is concluded that out of 8 possible four-way hybrids tested 4 of them had sex-limitation. However only the hybrid (SN1 × Iva1) × (Magi2 × Nova2) manifested sex-limitation in both straight and opposite crosses.

100 % female larvae with zebra markings were detected in this hybrid, called Ze 4. However about 50 % of these zebra marked larvae had also normal markings on the skin and the other 50 % of the larvae did not have any other markings except for the zebra. In the male larvae about 50 % were with normal markings and the rest were plain. This segregation was detected both in the straight (Ze4/1) and in the opposite (Ze4/2) cross. In fact the segregation was one the same in both sexes, but in the females it seemed to be like “hidden” by the zebra markings.

In the crosses between sex-limited for larval markings breeds in all the cases when the mother parent has the zebra markings the sex-limitation in the progeny is preserved. The reason is because the zebra marking dominates over the normal marking and the plain.

It could be concluded that by using 11 backcrosses, combined with proper selection methods 4 new silkworm sex-limited for larval markings pure lines were created, having similar qualitative and quantitative characters values to those in the original pure lines of the recognized by the government and widely adopted in the field commercial hybrid (Hesal × KK) × (Gergana2 × Vesletz2).

We could make also the conclusion that by using the methodology, described in this paper a new sex-limited analogue of the commercial hybrid recognized by the government and adopted in the field was created.

The testing of the new hybrid Ze 4 manifested sufficient productive characters values for the Philippines (a tropical country) and for the unfavorable summer and autumn seasons in Bulgaria (a temperate country).

We can conclude that the new Bulgarian hybrid Ze 4 can easily adapt to Philippines agro-climatic conditions.

REFERENCES

- ASTAUROV B. (1933) Artificial mutations in the silkworm, *Bombyx mori* L..I. Experiment to obtain sex-connected lethales by γ irradiation. Biological journal. vol.II, No. 2-3, 116-131.
- BRASLAVSKII M. (1997) Theoretical ground and experimental development the basic programs of silkworm *Bombyx mori* L. breeding. Doctoral degree thesis, Harkov.
- JEONG W., CHOI J., BAF K., SUNK H. (1990) Heterosis inbreeding depression and combining ability of base characters in silkworm by diallel crosses, Rs. Recp. Of Korea Technology Res. Inst., 11(1), 101 — 114;
- HASIMOTO H. (1948) Sex-limited Zebra an X-ray mutation in the silkworm, J. Seric. Sci., Japan, 16;

- KANTARATANAKUL S., THARVARNANUKULKIT C., WONGTHANG S., SHREONYNG S.(1987) Heterosis in F1 hybrid between polyvoltine and bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L., *Sericologia*, 27 (3), 373 — 380;
- KIPRIOTIS E., PETKOV N., TZENOV P., GREKOV D. 1999. Practical Sericulture. Komotini, Greece, 129 pp.
- LIDANSKI T.(1988) Statistical methods in the biology and agriculture.Sofia.
- LEE S.P., KIM S.E., KIM K.M., LEE S.M., LEE H.Z., LEE Y.I. (1989) Induction of sex-limited cocoon color character by translocation of yellow blood gene Y (II-25.6) on to W chromosome by gamma irradiation in silkworm, *Bombyx mori*. Korean J. of Breeding, 21(3), 219-223.
- OSAWA K., HARADA C.(1994) Study on the F1 hybrid of the silkworm on the effect heterosis; J. Bull. Exp. Sta., 12;
- SINGH R., NAGARAJA J., RAMAMOHAMA P., GUPTA S.(1990) Heterosis analysis in the silkworm, *Bombyx mori* L., *Sericologia*, 30 (3), 293 — 300;
- TAZIMA Y. (1964) The genetics of the silkworm, Logos Press, London, 253 pp;
- TICHOMIROV A. (1891) Osnovi prakticheskogo shelkovodstva.Moskow.
- TZENOV P., VASILEVA J.(2002) Silkworm Genetic Resources in Bulgaria, 19th Congress of ISC, 21-25th Sep., Bangkok, Thailand.

LIGNAGE D'UN NOUVEL HYBRIDE COMMERCIAL BULGARE DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* LIMITE AU SEXE POUR LES MARQUAGES LARVAIRES, ZE4, ET ETUDE DE SA PERFORMANCE AUX PHILIPPINES ET EN BULGARIE

P. I. TZENOV¹ & Z. I. DE GUZMAN²

1. Sericulture Experiment Station, 24 Mito Orozov Str., Vratza 3000, Bulgarie.
2. Department of Science and Technology, Philippine Textile Research Institute, Gen. Santos Avenue, Bicutan Taguid, Metor Manila Philippines 1631.

Cette étude a été entreprise dans le but de mettre au point une méthodologie pour la création d'analogues limités au sexe d'hybrides commerciaux / de lignées pures déjà sélectionnés afin de raccourcir le processus de lignage et d'obtenir une production d'œufs de vers à soie plus efficace.

*L'étude a été réalisée de 1998 à 2003 à la **Sericulture Experiment Station**, de Vratza en Bulgarie et en 2002-2003 au Département des Sciences et de Technologie du **Philippine Textile Research Institute** aux Philippines.*

*Le processus de lignage commence au printemps 1998 à la **Sericulture Experiment Station**, de Vratza en Bulgarie et on élève 3 générations chaque année pendant quatre ans.*

*Le but de la stratégie de lignage est d'utiliser des lignées pures existantes, les parents de l'hybride commercial robuste (*Hesa 1* × *KK*) × (*Gergana2* × *Vesletz2*) ainsi que quatre lignées aux marquages larvaires limités au sexe introduites du Japon pour créer de nouvelles lignées limitées au sexe, ayant des valeurs similaires pour les caractères quantitatifs à celles des lignées parentales pures de l'hybride commercial.*

*La méthode de lignage s'appuie complètement sur des croisements de retour et sur l'utilisation de quatre nouvelles lignées à savoir *SN1*, *Iva 1*, *Nova 2* et *Magi 2*, analogues aux lignées pures *Hesa 1*, *KK*, *Vesletz 2* et *Gargana 2* mais limitées au sexe pour les marquages larvaires.*

*D'après l'étude ci-dessus, nous concluons que sur 8 hybrides croisés de manière quadruple 4 d'entre eux présentent un marquage limité au sexe. Cependant, seul l'hybride (*SN1* × *Iva1*) × (*Magi2* × *Nova2*) présente un marquage limité au sexe dans les croisements directs et opposés.*

*Chez cet hybride appelé *Ze 4*, cent pour cent des larves femelles sont zébrées. Cependant, environ 50 % de ces larves marquées zébrées ont aussi des marquages normaux sur la peau et les autres 50 % des larves marquées n'ont pas d'autres marquages en dehors des zébrures. Chez les larves mâles, environ 50 % ont des marquages normaux et le reste est uni. On détecte cette ségrégation à la fois dans les croisements directs (*Ze4/1*) et opposés (*ZE4/2*). En fait, la ségrégation est la même chez les deux sexes mais chez les femelles elle semble être comme " cachée " par les marquages zébrés.*

Dans les croisements entre les lignées limitées au sexe pour les marquages larvaires, dans tous les cas quand le parent femelle a des marquages zébrés, la limitation au sexe est conservée dans la descendance. Le marquage larvaire domine le marquage normal et uni.

On peut conclure qu'en utilisant 11 croisements de retour, associés à des méthodes de sélection correctes on crée 4 nouvelles lignées pures de vers à soie limitées au sexe pour les marquages larvaires, qui ont des caractères qualitatifs et quantitatifs similaires à ceux des lignées pures originelles reconnues par le gouvernement et à l'hybride commercial originel largement adopté (Hesal × KK) × (Gergana2 × Vesletz2) sur le terrain.

Nous pouvons conclure qu'en utilisant la méthodologie décrite dans cet article, on a créé un nouvel analogue de l'hybride commercial reconnu par le gouvernement et adopté sur le terrain.

L'évaluation du nouvel hybride Ze4 montre qu'il présente des valeurs suffisantes pour les caractères productifs aux Philippines (un pays tropical) et pour les saisons défavorables de l'été et de l'automne en Bulgarie (un pays tempéré).

Nous pouvons conclure que le nouvel hybride bulgare Ze4 peut facilement s'adapter aux conditions agro-climatiques des Philippines.

INTRODUCTION

De nos jours le succès de la sériciculture mondiale notamment sur le plan pratique dépend de l'utilisation la plus rationnelle possible de l'hétérosis et de l'hybridation (Tazima, 1964 ; Kantaratanarul et coll., 1987 ; Jeong et coll., 1990 ; Singh et coll. ; Osawa et Harada, 1994 ; Braslavskii et coll., 1997).

Il est de notoriété qu'on a recours aux lignées de ver à soie limitées au sexe dans le but d'obtenir une production d'œufs de vers à soie plus facile et plus efficace, surtout pour la discrimination sexuelle. Le premier essai pour créer des lignées de ver à soie limitées au sexe a été entrepris par Tichomirov (1891), suivi par les essais réussis d'autres chercheurs comme Astaurov (1933), Tazima (1944), Hasimoto (1948), Lee et coll., (1989).

La première souche de ver à soie aux larves femelles marquées et aux mâles unis a été créée par Tazima (1944) en traitant les œufs de vers à soie venant d'éclore aux rayons X et en transloquant l'allèle P+ et sa liaison ver le chromosome sexuel W. Plus tard, en utilisant la même méthode, Hasimoto (1948) a réussi à créer une nouvelle lignée limitée au sexe aux larves femelles zébrées et aux larves mâles unies.

Récemment, les efforts de lignage du ver à soie à la *Sericulture Experiment Station* de Vratza, en Bulgarie se sont tournés vers la création de lignées / hybrides présentant une tolérance plus élevée aux conditions d'élevage adverses. Cela vient de la nécessité d'intensifier la production de cocons en Bulgarie en adoptant l'élevage d'été et d'automne ainsi que pour exporter les œufs de vers à soie vers des contrées tropicales.

En conséquence, on a sélectionné un nouvel hybride commercial de ver à soie résistant (Hesal 1 × KK) × (Gergana2 × Vesletz2), autorisé par le gouvernement en 1999 et largement adopté sur le terrain de 2000 à 2003.

Pour améliorer la technologie de production des œufs de ver à soie, il nous est venu à l'idée d'utiliser des lignées parentales pures de l'hybride déjà créé pour créer de nouvelles lignées pures limitées au sexe pour les marquages larvaires. Nous avons pensé qu'en utilisant une méthode de retro-croisement associée à une sélection correcte, les nouvelles lignées pures limitées au sexe présenteraient des valeurs quantitatives et qualitatives similaires à celles des lignées parentales pures de l'hybride commercial.

Cette étude a été réalisée dans le but de mettre au point une méthodologie de création d'analogues limités au sexe des lignées pures résistantes déjà sélectionnées / de l'hybride commercial, dans le but de raccourcir le processus de lignage et d'obtenir une production d'œufs de vers à soie plus efficace et plus facile.

MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée de 1998 à 2003 à la *Sericulture Experiment Station* de Vratza, en Bulgarie et en 2002-2003 au Département de Science et de Technologie du *Philippine Textile Research Institute* aux Philippines.

Matériel initial pour le lignage du ver à soie :

On utilise les lignées suivantes de ver à soie comme matériel initial dans le processus de lignage : KK, NIG-1, Hesa 1, Ze Aojuku, Gergana 2, Ze Chinese 108, NIG-2 et Vesletz2. Les caractéristiques qualitatives et l'origine des lignées venant d'être sélectionnées sont présentées dans le Tableau I.

Les lignées Hesa1, KK, Gergana 2 et Vesletz2 sont les parents de l'hybride commercial de ver à soie croisé de manière quadruple (Hesa1 × KK) × (Gergana 2 × Vesletz2) qui a été spécialement sélectionné pour être tolérant à l'élevage dans les conditions adverses.

Méthodologie du processus de lignage :

Le processus de lignage a commencé au printemps 1998 à la *Sericulture Experiment Station* de Vratza, 3 générations ont été élevées chaque année pendant quatre années.

Le but de la stratégie de lignage est d'utiliser les lignées pures existantes, parents de l'hybride commercial résistant (Hesa1 × KK) × (Gergana 2 × Vesletz2) ainsi que quatre lignées limitées au sexe pour les marquages larvaires, introduites récemment du Japon dans le but de créer de nouvelles lignées limitées au sexe, ayant des valeurs pour les caractères qualitatifs et quantitatifs similaires à celles des lignées parentales pures de l'hybride commercial.

La méthode de lignage s'appuie entièrement sur des croisements de retour et en utilisant 4 nouvelles lignées, à savoir SN1, Iva1, Nova2 et Magi2, analogues des lignées pures Hesa1, KK, Vesletz2 et Gergana2 mais limitées au sexe pour le marquage larvaire.

Puisque la méthodologie de lignage est la même chez les 4 lignées, nous ne présentons ici que l'exemple du lignage de la lignée Iva1 :

Etape 1 :

Population initiale : croisement entre les femelles de **Nig 1** (limitées au sexe pour les marquages larvaires – femelle marquée, mâle uni, cocons de type japonais allongés avec un resserrement) et mâles de **KK** (ayant des larve unies, des cocons de types japonais, allongés avec un resserrement marqué).

Etape 2 :

Croisements de retour pendant 9 générations, en utilisant les femelles de la population initiale ci-dessus, accouplés avec les mâles sélectionnés de la lignée KK et élevage en masse.

Etape 3 :

Croisements de retour pendant 3 autres générations, mais avec un élevage en lots.

Etape 4 :

Nouvelle lignée de ver à soie : Iva1, maintenue chaque année par élevage en lots et en n'utilisant que des individus femelles sélectionnés, accouplés avec des mâles sélectionnés de la lignée KK.

Sur le plan pratique, on ne procède à la sélection qu'avec des individus femelles d'Ival, en utilisant les mâles sélectionnés de KK. Dans ce cas, on maintient la lignée pure de base (KK) en grand volume, en recourant à la sélection nécessaire et on maintient l'analogue limité au sexe Iva l dans un volume plus faible (8 à 10 lots pendant l'élevage).

Critères principaux pour le niveau désiré des caractères de lignage et la sélection:

Les cibles de lignage sont en général les suivantes :

Lignées de type japonais : Limitées au sexe pour les marquages larvaires, allongées avec des cocons dont la forme est resserrée, de couleur blanche.

Lignées de type chinois : Limitées au sexe pour les marquages larvaires, ovales et cocons de couleur blanche.

Ecllosion : Aussi élevée que possible. Vérifiée individuellement.

Durée larvaire : 25 à 26 jours. Pontes vérifiées.

Durée du 5^{ème} âge : 5,5 à 6,5 jours. Pontes vérifiées.

Taux de nymphose : Aussi élevé que possible. Pontes vérifiées.

Nombre d'œufs normaux dans les pontes : Plus de 550. Vérifiés individuellement.

Poids des œufs normaux dans la ponte : Plus de 0,330g. Vérifiés individuellement.

Cocons de bonne qualité : plus de 95 %. Pontes vérifiées.

Poids des cocons frais : Les pontes / les individus pour la lignée ayant le poids de cocon le plus élevé ou moyen sont sélectionnés. Pontes vérifiées en premier et ensuite individuellement.

Poids de la coque : On sélectionne les pontes / les individus ayant le poids de la coque le plus élevé pour la lignée, le poids de cocon ou moyen le plus élevé et le pourcentage de richesse soyeuse le plus élevé. Pontes vérifiées et ensuite individuellement.

Richesse soyeuse : On sélectionne les pontes / individus ayant la richesse soyeuse la plus élevée pour la lignée. Pontes vérifiées et individuellement.

Rendement en cocons frais pour une boîte d'œufs : On sélectionne les pontes ayant les valeurs les plus élevées. Pontes vérifiées.

Longueur du filament :

On vérifie ce caractère pendant l'évaluation primaire de la population initiale pour le lignage et pour chaque année / génération pendant le processus de lignage. Pendant l'évaluation primaire, on sélectionne seulement les populations ayant une longueur totale de filament de plus de 950 m et une longueur de filament sans rupture de plus de 800 m. Pendant le processus de lignage, si une lignée présente des valeurs inférieures à la limite pendant plus de 2 générations pour le caractère, elle est rejetée.

Pourcentage de soie grège :

On vérifie ce caractère pendant l'évaluation primaire de la population initiale pour le lignage et au cours de chaque année / génération pendant le processus de lignage. Pendant l'évaluation primaire, on ne sélectionne que les populations qui ont un pourcentage de soie grège de plus de 39 % (calculé sur la base du poids sec). Pendant le processus de lignage, si une lignée présente des valeurs inférieures à la limite pendant plus de 2 générations, on la rejette.

Méthodologie pour étudier l'héritage des marquages larvaires et de la limitation au sexe dans les différents croisements :

Pour déterminer la manière dont les croisements donnent la limitation au sexe pour les marquages larvaires chez les catégories d'œufs de vers à soie P1 et F1, on teste toutes les combinaisons hybrides possibles (Tableau II).

On élève chaque lignée et hybride en 3 lots séparés. Au 5^{ème} âge, on sépare les larves dans chaque lot selon leur marquage larvaire. On compte les larves de chaque groupe et on dévide leurs cocons séparément pour vérifier le sexe du groupe au stade nymphal.

Méthodologie pour vérifier les différences entre les lignées originelles, les lignées de vers à soie limitées au sexe venant d'être obtenues et les lignées pures, utilisées pour les croisements de retour, aux différentes générations du croisement de retour :

A partir des 4^{ème} et 11^{ème} générations de croisement de retour des lignées venant d'être sélectionnées SN1, Iva1, Magi 2 et Nova2, on prend et on maintient des échantillons représentatifs constitués de 24 lots d'œufs de chaque lignée séparément en suivant la " Méthodologie pour le maintien des variétés de vers à soie " (Tzenov et Vasileva, 2002).

On maintient les lignées Ze Aojuku, Ze Chine 108, NIG-1 et NIG-2 selon la même méthodologie.

On maintient les lignées pures Hesa 1, KK, Gergana2 et Vesletz 2 en suivant la " Méthodologie pour le maintien des lignées pures de ver à soie " décrite par Tzevnov et Vasileva (2002).

Toutes les lignées sont testées simultanément deux fois au printemps 2002 et 2003 dans des conditions d'élevage normales (Kipriotis et coll., 1999). On teste chaque lignée en 8 lots de 250 larves chacun, que l'on compte après la 2^{ème} mue.

Méthodologie pour tester le nouvel hybride limité au sexe pour les marquages larvaires Ze4 :

Les œufs de ver à soie du nouvel hybride Ze4 sont produits en été 2002 comme des œufs en vrac en un lot. Une partie est traitée par HCL pour rompre la diapause et on élève les larves à l'automne (sept-oct.2002) à la *Sericulture Experiment Station* (SES) de Vratza. On fait aussi tester les œufs traités à l'acide aux Philippines en Oct-Nov. 2002 et Jan-Fevr., Avr-Mai 2003. Aux Philippines, les conditions climatiques du Technology Center de Benguets sont semi-tempérées avec une température annuelle comprise entre 8° C et 27 ° C tandis que les conditions climatiques de Misamis Oriental sont tropicales avec une température annuelle de 18° C –35° C.

On teste l'autre partie des œufs après qu'elle soit passée par la période de diapause au printemps et en été 2003 à la SES de Vratza.

Pour comparer les principales valeurs pour les caractères quantitatifs entre l'hybride venant d'être sélectionné et l'hybride originel (Hesa 1 × KK) × (Gergana 2 × Vesletz2) on élève les deux hybrides de manière habituelle (Kipriotis et coll., 1999) au printemps et pendant l'été 2003.

Chaque hybride est élevé en 4 répétitions de 250 larves, comptées après la 2^{ème} mue.

On calcule les données obtenues sur la base des méthodes internationales adoptées et unifiées et on les analyse sur le plan statistique (Lidansky, 1988).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'hérédité de la limitation au sexe dans les différents croisements est présentée dans le Tableau II.

Il est évident d'après le Tableau qu'au niveau P1 (parents de l'hybride croisé de manière quadruple), seul le croisement Iva1 × SN1 a perdu sa limitation au sexe et les 3 autres croisements sont limités au sexe. Dans le croisement SN1 × Iva 1, toutes les larves femelles ont à la fois des marquages zébrés et normaux tandis que dans le croisement Magi 2 × Nova2 les larves femelles ne présentent que des marquages zébrés.

Sur 8 hybrides croisés de manière quadruple testés, 4 ont une limitation au sexe. Cependant, seul l'hybride (SN1b × Iva1) × (Magi2 × Nova2) présente une limitation au sexe à la fois dans les croisements direct et opposé. Puisque l'un des buts du processus de lignage est de créer non seulement des lignées pures limitées au sexe mais aussi des hybrides commerciaux F1, on choisit le croisement (SN1 × Iva1) × (Magi2 × Nova2) et son contraire pour l'utiliser pour l'hybridation commerciale et on le nomme l'hybride " Ze4 ".

Cet hybride présente 100 % de larves femelles avec des marquages zébrés. Cependant, environ 50 % de ces larves marquées zébrées ont aussi des marquages normaux sur la peau et les autres 50 % des larves n'ont pas d'autres marquages à l'exception des zébrures. Chez les larves mâles, environ 50 % ont des marquages larvaires normaux et le reste est uni. On détecte cette ségrégation à la fois pour le croisement direct (Ze4/1) et opposé (Ze4/2).

En fait la ségrégation est la même chez les deux sexes mais chez les femelles, il semble qu'elle soit "cachée" par les marquages zébrés.

D'après les données présentées dans le Tableau II, on peut aussi conclure que dans les croisements entre les lignées limitées au sexe pour les marquages larvaires, dans tous les cas quand le parent mère a des marquages zébrés, on conserve la limitation au sexe dans la descendance. La raison est que le marquage zébré domine par rapport au marquage normal et uni. Donc, on pourrait utiliser l'hybride commercial Ze4 comme source pour la limitation au sexe d'autres lignées de vers à soie, suivant la méthode décrite dans cet article.

Il est évident d'après le Tableau III que les lignées japonaises limitées au sexe Ze Aojuku et Ze Chinoise 108 sont caractérisées par leur faibles viabilité et productivité tandis que les lignées NIG-1 et Nig-2 ont des valeurs normales pour les principaux caractères de lignage.

Grâce à des méthodes de lignage correctes à la 11^{ème} génération du croisement de retour, les nouvelles lignées limitées au sexe SN1, Iva1, Magi2 et Nova 2 présentent un taux de nymphose et de productivité plus élevés que les lignées originelles japonaises limitées au sexe. Pour la plupart des caractères étudiés, les nouvelles lignées limitées au sexe surpassent même les lignées pures utilisées pour le croisement de retour. Nous expliquons ce surpassement par la disponibilité probable d'une hétérosis qui s'exprime grâce à la méthode de lignage et de maintien des vers à soie.

On pourrait en conclure qu'en utilisant 11 croisements de retour, associés à des méthodes de sélection correctes, on crée 4 nouvelles lignées pures de vers à soie limitées au sexe pour les marquages larvaires, qui ont des caractères productifs similaires à ceux des lignées originelles pures (Hesal × KK) × (Gergana2 × Vesletz2).

Les observations relevées pour certains caractères qualitatifs comme le chorion de l'œuf et la couleur de la sereuse et la forme du cocon (Tableau I) chez les lignées pures limitées au sexe venant d'être sélectionnées montrent qu'ils sont les mêmes que ceux des lignées pures originelles Hesal, KK, Gergana2 et Vesletz2.

Les données concernant la comparaison des valeurs pour les principaux caractères productifs entre l'hybride originel F1 à quatre voies et le nouvel hybride F1 Ze4 limité au sexe pour les marquages larvaires sont présentées dans le Tableau IV. D'après les sept caractères quantitatifs étudiés, seul le poids du cocon frais est significativement plus élevé chez le nouvel hybride limité au sexe que chez l'originel, ce qui confirme le degré élevé de similarité entre les deux hybrides.

On peut tirer la conclusion qu'en utilisant la méthodologie décrite dans cet article, on a créé un nouvel analogue limité au sexe à celui reconnu par le gouvernement et adopté sur le terrain.

Les données sur la performance du nouvel hybride commercial Ze4 limité au sexe aux Philippines et en Bulgarie sont présentées dans les Tableaux V et VI.

Dans les deux pays, le nouvel hybride présente un taux d'éclosion des œufs de vers à soie très élevé. Une exception est l'éclosion en juillet en Bulgarie, à cause de la trop longue durée de conservation des œufs après la rupture de la diapause. La durée larvaire et la durée du 5^{ème} âge sont comparativement courtes dans les deux pays (respectivement 25,13 à 25,78 jours et 6,52 jours en moyenne).

Le taux de nymphose moyen est comparativement élevé (plus de 95 %). L'évaluation pendant trois saisons différentes en Bulgarie, dont deux sont favorables à l'élevage du ver à soie (automne et été) ne montre pas de grandes différences pour le taux de nymphose, ce qui montre que l'hybride est tolérant aux conditions d'élevage adverses.

Les autres caractères quantitatifs étudiés montrent des valeurs de production suffisantes pour les Philippines (un pays tropical) et pour les saisons défavorables de l'été et de l'automne en Bulgarie (un pays tempéré).

Aux Philippines, il n'est pas difficile d'élever le nouvel hybride de ver à soie bulgare. On peut en conclure que l'hybride bulgare peut facilement s'adapter aux conditions agro-climatiques des Philippines.

D'après l'étude ci-dessus, on conclut que sur 8 hybrides croisés de manière quadruple testés, 4 d'entre eux présentent une limitation au sexe. Cependant, seul l'hybride (SN1 × Iva1) × (Magi2 × Nova2) présente une limitation au sexe à la fois dans les croisements directs et opposés.

On détecte 100 % de larves femelles avec des marquages zébrés chez cet hybride appelé Ze4. Cependant, environ 50 % de ces larves marquées zébrées ont aussi des marquages normaux sur la peau et les autres 50 % des larves n'ont pas d'autres marquages en dehors des zébrures. Chez les larves mâles environ 50 % ont des marquages normaux et le reste sont unies. On détecte cette ségrégation à la fois dans le croisement direct (ZE4/1) et opposé (Ze4/2). En fait, la ségrégation est la même chez les deux sexes mais chez les femelles il semble être comme "caché" par les marquages larvaires.

Dans les croisements entre les lignées limitées au sexe pour les marquages larvaires dans tous les cas quand le parent femelle a des marquages zébrés, la limitation au sexe de la descendance est maintenue. Cela vient du fait que le marquage zébré est dominant par rapport au marquage normal et uni.

On peut en conclure qu'en utilisant 11 croisements de retour associés à des méthodes de sélection correctes, on a créé 4 lignées pures de ver à soie limitées au sexe pour les marquages larvaires, qui ont des valeurs similaires pour les caractères quantitatifs et qualitatifs à ceux des lignées originelles de l'hybride commercial reconnu par le gouvernement et largement adopté sur le terrain (Hesal × KK) × (Gergana2 × Vesletz2).

Nous avons aussi pu conclure qu'en utilisant la méthodologie décrite dans cet article, on a créé un nouvel analogue limité au sexe de l'hybride commercial reconnu par le gouvernement et adopté sur le terrain.

L'utilisation du nouvel hybride Ze4 montre des valeurs suffisantes pour les caractères productifs pour les Philippines (un pays tropical) et pour les saisons défavorables de l'été et de l'automne en Bulgarie (un pays tempéré).

Nous en concluons que le nouvel hybride bulgare Ze4 peut facilement s'adapter aux conditions agro-climatiques des Philippines.

ESTIMATION OF CROP LOSS DUE TO ASPERGILLOSIS AND PATHOGENICITY OF *ASPERGILLUS* TO SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

G. P. SINGH¹*, T. SELVAKUMAR, S. D. SHARMA, B. NATARAJU & R. K. DATTA²

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

1. Central Tasar Research and Training Institute, Piskanagri, Ranchi – 835 303, India

2. # 202, Silver Oak, 8th Cross, Srirampura II stage, Mysore – 570 023, India.

The prevalence of aspergillosis in silkworm rearing and crop loss due to it in bivoltine, multivoltine and cross breed rearing areas during winter, summer and rainy seasons was studied. Aspergillus flavus and A. tamarii pathogenic to silkworm and A. niger (not pathogenic to silkworm) were observed to prevail in different silkworm rearing areas. The maximum potential of crop loss/100 dfls due to aspergillosis was 1.35 ± 0.73 to 11.61 ± 1.46 kg cocoons in different seasons. Incidence of aspergillosis was higher in bivoltine silkworm rearing area than in multivoltine and cross breed. A. flavus was more pathogenic to silkworm than A. tamarii.

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, aspergillosis, crop loss, pathogenicity.

INTRODUCTION

Aspergillosis is a major silkworm disease in several sericultural countries. It is a fungal disease caused by a number of *Aspergillus* fungi. In India there were unconfirmed reports on its prevalence and crop loss due to it. More than ten species of *Aspergillus* have been found to infect silkworm in Japan (Kawakami, 1982). This disease is also prevalent in tropical countries like Thailand, Indonesia, Vietnam and Sri Lanka. Two species *A. tamarii* (Devaiah and Chinnaswami, 1983) and *A. flavus* (Patil, 1989), infecting the mulberry silkworm, *B. mori*, have been reported from India. Susceptibility of silkworm breed have been studied by Kawakami (1975), Narayanaswamy and Govindan (1989), Aoki *et al.* (1972), Kawakami and Mikuni (1973) and Chinnaswamy and Devaiah (1984).

Rearing of young age (Chawki) silkworms requires high temperature (27-28 °C) and high relative humidity (85-95%) and in fact these conditions are also favorable for the growth and multiplication of *Aspergillus* fungi (Kawakami, 1982). In India, studies on level of prevalence of *Aspergillus* fungi in the rearing environment, rate of infection and quantified loss in silkworm crops are scanty. It appears that major loss during Chawki rearing may be due to aspergillosis. Hence, the present study was made on distribution of *Aspergillus* in the rearing environment, estimation of crop loss and infection effect of different pathogen load on different instars of silkworms.

MATERIALS AND METHODS

A survey on incidence of aspergillosis in bivoltine seed area (Hassan), multivoltine seed area (Kunigal) and cross breed rearing area (Srirangapatana) was conducted in three rearing seasons i.e.

* Texte de note Central Tasar Research and Training Institute.

winter, summer and rainy to ascertain the prevalence of the *Aspergillus* fungi in the rearing environment and to estimate crop loss due to it. During each season a total number of 40 crops at farmer level in each area were surveyed. Dust, excreta and dead larvae were collected separately in sterilized sealed plastic bags from rearing floor and rearing trays from 40 rearing houses located at different places/localities and carried out to the Laboratory. The collected samples were screened separately for the presence of *Aspergillus*. One gram of dust/fecal material sample collected was dissolved in sterilized water and allowed to settle for 20-30 minutes and filtered through a nylon blotting cloth. One ml of filtrate was inoculated in Czapek Dox agar *Aspergillus* specific medium and incubated at $28 \pm 1^\circ \text{C}$ temperature and $85 \pm 5\%$ relative humidity for 72 hrs. The spores concentration was counted using haemocytometer. The dead larvae samples collected were incubated at $28 \pm 1^\circ \text{C}$ and $85 \pm 5\%$ relative humidity for 72 h and growth of *Aspergillus* was observed. The maximum potential yield reduction was estimated based on the percent of infection of aspergillosis and the maximum yield potential of each breed. The maximum potential yields of different breeds/hybrids were as reported by Thangavelu (1997). The maximum potential yield reduction (MPYR) or crop loss/100 disease free layings was calculated by using the formula (MPYR = percent of infection $\times$ maximum potential yield/100) (Selvakumar *et al.*, 2002).

The spores of *A. flavus*, *A. tamarii* and *A. niger* identified by Division of Plant Pathology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi were obtained from pure culture. The spore suspension was prepared in double distilled autoclaved water and stored at 5°C . Bioassay of the above identified species was conducted to determine the pathogenicity to the silkworm. The stock suspension containing 1×10^7 spores/ml was serially diluted i.e. 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 and 10^2 . Two ml of each concentration was sprayed using a glass atomizer once over 100 bivoltine silkworm hybrids of CSR2 $\times$ CSR4 just out of moult at each instar. After infection, the larvae were reared under optimum temperature $25-28^\circ \text{C}$ and relative humidity 80-90% as advocated by Krishanaswami (1979). For each treatment, three replications were maintained with control batches. Observations were made on disease symptoms and larval mortality. Cumulative mortality was used for probit analysis to get the LC₅₀ values using Completely Randomized Design (Davis, 1967).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of presence of *Aspergillus* fungi in samples of dust, silkworm excreta and dead larvae collected from chawki rearing in different sericultural areas in different seasons are presented in Table I. The *Aspergillus* fungi were detected at the rate 52.50 – 72.50, 47.50 – 58.50 and 14.00 – 20.00% in dust, excreta and dead larvae respectively in winter season. The prevalence of *Aspergillus* in samples collected was least in summer season which ranged 32.50 – 40.00, 27.50 – 30.00 and 5.00 – 7.50 % in dust, excreta and dead larvae respectively. The prevalence of *Aspergillus* was high in rainy season (65.00 – 77.50, 57.50 – 72.50 and 17.50 – 25.00% in dust, excreta and dead larvae respectively). Three species of *Aspergillus* were observed and identified as *Aspergillus flavus* Link. (yellow green becoming green with age), *A. tamarii* Kita (rusty brown) and *A. niger* (black in colour). *A. flavus* was observed in the majority of samples.

The high incidence of *Aspergillus* in rearing environment may be due to the fact that it can grow saprophytically on the soil surface as well as on rearing appliances (Aoki *et al.*, 1972). Kawakami (1982) noticed that the environmental conditions prevailing in young silkworm rearing houses were also quite favorable for the development and multiplication of this fungi. High rate of prevalence of *Aspergillus*, especially *A. flavus* in the rearing areas suggests that the existing disinfection processes either may have been inadequate to kill the spores of this fungus or that they might have become resistant to formalin, as suggested by Kawakami (1982).

Table I. Prevalence of *Aspergillus* and percentage of infection in young (Chawki) silkworms in different sericultural areas.

Tableau I. Prédominance d'*Aspergillus* et pourcentage d'infestation chez les jeunes vers à soie (chawki) dans différentes zones séricicoles.

Rearing Season	Sericultural Area	Samples examined	<i>Aspergillus</i> present	<i>Aspergillus</i> species isolated (%)		
				<i>A. flavus</i>	<i>A. tamaraii</i>	<i>A. niger</i>
Saison d'élevage	Zone de sériciculture	Echantillons examinés	Présence d' <i>Aspergillus</i>	Espèce <i>Aspergillus</i> isolée		
				<i>A. flavus</i>	<i>A. tamaraii</i>	<i>A. niger</i>
Winter Hiver	Bivoltine	Dust / Détritus	72.50	50.00	12.50	70.00
		Excreta / Déjections	58.50	30.00	7.50	52.00
		Dead larvae				
		Larves mortes	20.00	17.50	10.0	10.00
	Multivoltine Polyvoltine	Dust / Détritus	62.50	30.00	12.50	60.00
		Excreta / Déjections	52.50	24.00	7.50	50.00
		Dead larvae				
		Larves mortes	12.50	10.00	7.50	12.50
	Cross breed Hybride	Dust / Détritus	52.50	20.00	16.00	50.00
		Excreta / Déjections	47.50	10.00	10.00	45.00
		Dead larvae	14.00	10.00	7.50	12.50
		Larves mortes				
Summer Eté	Bivoltine	Dust / Détritus	40.00	17.50	10.00	30.00
		Excreta / Déjections	30.00	10.00	7.50	30.00
		Dead larvae	7.50	5.00	0.00	0.00
		Larves mortes				
	Multivoltine Polyvoltine	Dust / Détritus	36.00	15.00	15.00	27.50
		Excreta / Déjections	30.00	10.00	20.00	25.00
		Dead larvae				
		Larves mortes	7.50	5.00	0.00	0.00
	Cross breed Hybride	Dust / Détritus	32.50	10.00	2.50	22.50
		Excreta / Déjections	27.50	17.50	10.00	25.00
		Dead larvae				
		Larves mortes	5.00	6.00	0.00	0.00
Rainy Saison des pluies	Bivoltine	Dust / Détritus	77.50	67.50	25.00	75.00
		Excreta / Déjections	72.50	62.50	20.00	67.50
		Dead larvae				
		Larves mortes	25.00	20.00	10.00	75.00
	Multivoltine Polyvoltine	Dust / Poussière	70.00	42.50	17.50	65.00
		Excreta / Déjections	65.00	30.00	7.50	67.50
		Dead larvae				
		Larves mortes	20.00	17.50	5.00	15.00
	Cross breed Lignée croisée	Dust	65.00	30.00	15.00	55.00
		Excreta / Déjections	57.50	45.00	7.50	52.50
		Dead larvae				
		Larves mortes	17.50	15.00	7.50	17.50

The infection percent of *Aspergillus* was 11.44 ± 1.24 to 13.91 ± 3.79 in winter, which was reduced to 3.75 ± 0.75 to 6.00 ± 1.00 % in summer and reached to maximum 13.40 ± 1.15 to 16.83 ± 2.08 % during rainy season in different silkworm breeds. Similarly the prevalence of aspergillosis was high in bivoltine seed area, Hassan (6.00 ± 1.00 to 16.83 ± 2.08 %) as compared to multivoltine seed area (3.75 ± 0.75 to 14.30 ± 0.85 %) and crossbreed rearing area, Srirangpatana (4.38 ± 0.63 to 13.91 ± 3.79 %).

The silkworm crop loss due to *Aspergillus* was estimated based on the maximum yield potential of silkworm breed. The maximum potential crop loss/100 disease free layings varied from 1.35 ± 0.73 to 11.61 ± 1.46 kg in different rearing seasons and different silkworm seed area (Table II).

Table II. Range of infection and maximum potential of crop loss due to Aspergillosis in silkworm, *Bombyx mori* L

Tableau II. Etendue de l'infestation et potentiel maximum de pertes de récoltes dues à l'aspergillose chez le ver à soie, Bombyx mori L.

Sericultural area	Rearing season					
	Winter		Summer		Rainy	
	Infection (%)	Maximum potential crop loss / 100dfls (kg)	Infection (%)	Maximum potential crop loss/ 100dfls (kg)	Infection (%)	Maximum potential crop loss/ 100dfls (kg)
	Saison d'élevage					
	Hiver		Été		Saison des pluies	
Zone séricicole	Infestation (%)	Potentiel maximum de perte de récolte / 100 pontes saines (kg)	% d'infestation	Potentiel maximum de perte de récolte / 100 pontes saines (kg)	Infestation (%)	Potentiel maximum de perte de récolte / 100 pontes saines (kg)
Bivoltine	13.87 ± 1.37	9.43 ± 1.19	6.00 ± 1.00	4.08 ± 0.75	16.83 ± 2.08	11.61 ± 1.46
Multivoltine <i>Polyvoltin</i>	11.44 ± 1.24	4.12 ± 0.45	3.75 ± 0.75	1.35 ± 0.73	14.30 ± 0.85	5.16 ± 0.29
Cross breed <i>Hybride</i>	13.91 ± 3.79	9.71 ± 2.65	4.38 ± 0.63	3.02 ± 0.47	13.40 ± 1.15	9.35 ± 0.80

The high incidence in bivoltine seed area more than in multivoltine and in cross breed in present investigation confirms the earlier information of Israngkul and Sinchaisri (1973), Israngkul (1974) and Chinnaswamy and Devaiah (1984) who noticed that polyvoltine strains of silkworm are more resistant to *Aspergillus* infection than bivoltine silkworm strains. Similarly variation in *Aspergillus* infection in different seasons agreed with Chinnaswamy (1983) who has reported that aspergillosis in silkworm occurred in all seasons with varied level of infection from season to season.

Three species, *A. flavus*, *A. tamarii* and *A. niger* which were isolated from the samples collected from the field were tested for their pathogenicity to silkworm (CSR2 × CSR4). *A. niger* was not found pathogenic to silkworm as this could not cause any mortality in silkworm even at higher density of 1×10^6 conidia/ml. *A. flavus* and *A. tamarii* were found pathogenic to silkworm and the LC₅₀ values of them are presented in Table III. The lower LC₅₀ values of *A. flavus* in 1st, 2nd and 3rd instar of silkworm indicated that *A. flavus* is more pathogenic than *A. tamarii*. The LC₅₀ value in 1st instar were 3.93×10^3 and 5.86×10^4 , in 2nd instar 8.81×10^5 and 2.69×10^6 and in 3rd instar 1.42×10^7 and 1.02×10^8 for *A. flavus* and *A. tamarii* respectively.

Table III. LC₅₀ values of *Aspergillus flavus* and *A. tamarii* to silkworm, *Bombyx mori* L.

Tableau III. Valeurs LC₅₀ pour *Aspergillus flavus* et *A. tamarii* chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

Instar	<i>Aspergillus flavus</i>			<i>Aspergillus tamarii</i>		
	LC ₅₀	Upper fiducial limit	Lower fiducial limit	LC ₅₀	Upper fiducial limit	Lower fiducial limit
Age		Limite supérieure	Limite inférieure		Limite supérieure	Limite inférieure
1 st	3.93×10^3	5.23×10^3	2.63×10^3	5.86×10^4	3.64×10^4	2.09×10^4
2 nd	8.81×10^5	1.38×10^6	3.80×10^5	2.69×10^6	4.20×10^6	1.19×10^6
3 rd	1.42×10^7	2.48×10^7	3.62×10^6	1.02×10^8	2.07×10^8	2.40×10^7

The LC₅₀ values of *A. flavus* were 3.93×10^3 in 1st instar and it increased to 1.42×10^7 in 3rd instar larvae. Similarly the LC₅₀ value of *A. tamarii* was 5.86×10^4 in 1st instar and increased to 1.02×10^8 in 3rd instar silkworm larvae. This trend of increasing of LC₅₀ value of *A. flavus* and *A. tamarii* from 1st instar to later instars indicates that the 1st instar larvae were more susceptible to *Aspergillus* infection than the later instars. These results are more or less similar to Aoki (1971) who reported that susceptibility of the silkworm to *Aspergillus* varies with the larval instar and he observed that 1st instar larvae were highly susceptible (100 % mortality) to *Aspergillus* more than 2nd, 3rd and 4th instar larvae. Similarly, Kawakami and Mikuni (1973) reported that the virulence of *A. flavus* was the highest on 1st day old first instar larvae and it decreased with the lapse of time.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Ms. Rekha, M. Senior Research Officer, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore for statistical analysis.

REFERENCES

- AOKI K. (1971) Silkworm disease in Thailand. Bull. Thai. Seric. Res. and Trag. Center, 1, 102 – 108.

- AOKI K., WADEE L., SINGISARI N (1972) On Silkworm Disease, especially pebrine and *Aspergillus* disease found in 1971. Bull Thai Seric. Res. and Traig. Center, 7, 72–76.
- CHINNASWAMY K. P. (1983) Studies on the Aspergillosis of silkworm, *Bombyx mori* L. caused by *Aspergillus tamarii* Kita. M.Sc. (Agric.) Thesis, Univ. Agric. Sci. Bangalore, p. 85
- CHINNASWAMY K. P & DEVAIAH M. C. (1984) Susceptibility of different races of silkworm, *Bombyx mori* L. to Aspergillosis caused by *Aspergillus tamarii* Kita. Sericologia, 24 (4), 513–517
- DAVIS O. L. (1967) Designed Analysis of Industrial Experiments. Published by Oliver and Boyd London, p 145-198
- DEVAIAH M. C. & CHINNASWAMY K. P. (1983) Aspergillosis of silkworm, *B. mori* L. caused by *Aspergillus tamarii*. Nat. Semin. On Silk Res. Dev., Bangalore, p. 77 (Abstract).
- ISRANGKUL L. (1974) Varietal resistance of silkworm to *Aspergillus* disease. Bull. Thai. Seric. Res. Trag. Center, 4, 113.
- ISRANGKUL L. & SINCHASRI N. (1973) Varietal resistance of silkworm to *Aspergillus* disease. Bull. Thai. Seric. Res. Trg. Centre, 3, 113-115
- KAWAKAMI K. (1975) Susceptibility of several varieties of the silkworm, *Bombyx mori* L. to *Aspergillus* disease and germination of fungus spores in larval haemolymph. J. Seric. Sci. Jpn, 44, 39-44
- KAWAKAMI K. (1982) Causal pathogens of *Aspergillus* disease of silkworm and its control. J. A. R. Q., 15, 185–190
- KAWAKAMI K. & MIKUNI T. (1973) Studies on the causative fungi of *Aspergillus* disease of silkworm larvae II. Resistance to mercuric fungicides and susceptibility in each larval stage of the silkworm to the infection of *Aspergillus* isolates collected from Co – operative rearing houses of young silkworm larvae. Bull. Seric. Expt. Stn., 26, 58-77.
- KRISHANASWAMI S. (1979) Improved method of rearing young age silkworm. Bull. No. 3, Central Silk Board, Bangalore, p. 24.
- NARAYANASWAMY T. K. & GOVINDAN R. (1989) Comparative susceptibility of some breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. to *Aspergillus flavus* Link. Sericologia, 29 (1), 33-37
- PATIL C. S. (1989) New records of fungal pathogen, *Aspergillus flavus* on mulberry silkworm, *B. mori* L. from India. Curr. Sci., 58 (12), 683.
- SELVAKUMAR T., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SIVAPRASAD V., BAIG M., VIRENDRA KUMAR, SHARMA S.D., THIAGRAJAN V., DATTA R.K. (2002) A report on the prevalence of silkworm diseases and estimated crop loss. Proc. Advances in Indian Sericulture Research, 354-357.
- THANGAVELU K (1997) Silkworm breeding in India – an overview. Indian Silk, 36(2), 5-13.

ESTIMATION DES PERTES DE RECOLTES DUES A L'ASPERGILLOSE ET PATHOGENICITE DE L'ASPERGILLOSE POUR LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L

G. P. SINGH^{1*}, T. SELVAKUMAR, S. D. SHARMA, B. NATARAJU & R. K. DATTA²

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

1. Central Tasar Research and Training Institute, Piskanagri, Ranahi – 835 303, Inde.

2. #202, Silver Oak, 8th Cross, Srirampura II stage, Mysore – 570 023, Inde.

*Nous avons étudié la présence d'aspergillose dans l'élevage du ver à soie et la perte de récoltes qu'elle entraîne dans l'élevage de bivoltins, de polyvoltins et des hybrides en hiver, en été et pendant la saison des pluies. Nous avons observé qu'*Aspergillus flavus* et *A. tamaritii* (pathogènes pour le ver à soie) et qu'*A. niger* (non pathogène pour le ver) sont présents dans différentes zones d'élevage du ver à soie. Le potentiel maximum de perte de récolte / 100 pontes saines dû à l'aspergillose est de $1,35 \pm 0,73$ à $11,61 \pm 1,46$ kg de cocons aux différentes saisons. L'incidence de l'aspergillose est plus élevée dans la zone d'élevage du ver à soie bivoltin que dans la zone des polyvoltins et des hybrides. *A. flavus* est plus pathogène pour le ver à soie qu'*A. tamaritii*.*

INTRODUCTION

L'aspergillose est une maladie majeure du ver à soie dans plusieurs pays séricicoles. C'est une maladie fongique provoquée par un certain nombre de champignons *Aspergillus*. En Inde, il existe des rapports non confirmés sur sa présence et sur les pertes de récolte qu'il provoque. On a trouvé que plus de dix espèces d'*Aspergillus* infestent le ver à soie au Japon (Kawakami, 1982). Cette maladie existe aussi dans les pays tropicaux comme la Thaïlande, l'Indonésie, le Vietnam et le Sri Lanka. On a rapporté que deux espèces d'*A. tamaritii* (Devaiah et Chinnaswamy, 1983) et d'*A. flavus* (Patil, 1989), infestent le ver à soie du mûrier, *B. mori* en Inde. Kawakami (1975), Narayanaswamy et Govindan (1989), Aoki et coll., (1972), Kawakami et Mikuni (1973) et Chinnaswamy et Devaiah (1984) ont étudié la sensibilité des lignées de vers à soie.

L'élevage des jeunes vers à soie (chawki) nécessite une température élevée (27-28° C) et une humidité relative élevée (85 à 95 %) et ces conditions sont aussi favorables à la croissance et à la multiplication des champignons *Aspergillus* (Kawakami, 1982). En Inde, les études sur le niveau de présence des champignons *Aspergillus* dans l'environnement d'élevage, sur le taux d'infestation et sur la perte quantifiée pour les récoltes du ver à soie sont rares. Il apparaît que la perte principale pendant l'élevage chawki pourrait être due à l'aspergillose. Nous avons donc entrepris cette étude sur la distribution d'*Aspergillus* dans l'environnement d'élevage, sur l'estimation de la perte de récolte et sur l'effet de l'infestation du nombre des différents pathogènes aux différents âges du ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé une étude sur l'incidence de l'aspergillose dans la zone de grainage bivoltine (Hassan), polyvoltine (Kunigal) et hybride (Srirangpatana) pendant les trois saisons d'élevage, c'est à dire en hiver, en été et pendant la saison des pluies pour s'assurer de la présence des champignons

Aspergillus dans l'environnement d'élevage et pour estimer la perte de récolte qui en découle. Pendant chaque saison, on étudie un nombre total de 40 récoltes au niveau du fermier dans chaque zone. On recueille les détritiques, les déjections et les larves mortes séparément sur le sol d'élevage et dans les claies d'élevage dans des sacs en plastique stérilisés et cachetés dans 40 magnaneries situées dans différents endroits / localités et on les apporte au laboratoire. On analyse séparément la présence d'*Aspergillus* dans les échantillons recueillis. On dissout dans de l'eau stérilisée un gramme de détritiques / de matière fécale, on laisse reposer pendant 20 à 30 minutes et on filtre avec un tissu buvard en Nylon. On inocule un ml de filtrat dans un milieu spécifique *Aspergillus* d'agar CzpeX Dox et on l'incube à une température de $28 \pm 1^\circ \text{C}$ et $85 \pm 5\%$ d'humidité relative pendant 72 heures. On compte la concentration en spores en utilisant un hémocytomètre. Les échantillons de larves mortes recueillies sont incubés à $28 \pm 1^\circ \text{C}$ et $85 \pm 5\%$ d'humidité relative pendant 72 h et on observe la croissance d'*Aspergillus*. On estime la diminution maximum de rendement potentiel d'après le pourcentage d'infestation par l'aspergillose et d'après le potentiel de rendement maximum pour chaque lignée. Les rendements potentiels maximum pour les différentes lignées / hybrides sont tels que rapportés par Thangavelu (1997). On calcule la diminution de rendement potentiel maximum (MPYR) ou la perte de récolte / 100 pontes saines en utilisant la formule (MPYR = pourcentage d'infestation $\times$ rendement potentiel maximum / 100 (Selvakumar et coll., 2002).

On obtient les spores d'*A. flavus*, d'*A. tamarii* et d'*A. niger* identifiées par la Division de Pathologie des Plantes, de l'*Indian Agricultural Research Institute* à New Delhi à partir de cultures pures. On prépare la suspension de spores dans de l'eau distillée deux fois autoclavée et on la stocke à 5°C . On procède à l'évaluation biologique pour les espèces identifiées ci-dessus pour déterminer leur pathogénicité pour le ver à soie. On dilue successivement la suspension mère contenant 1×10^7 spores / ml à 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 et 10^2 . On vaporise une fois deux ml de chaque concentration avec un atomiseur en verre sur 100 hybrides de vers à soie bivoltins de CSR2 $\times$ CSR4 venant de muer à chaque âge. Après l'infestation, on élève les larves à une température optimum de $25-28^\circ \text{C}$ et avec une humidité relative de 80 à 90 % d'après les instructions de Krishanaswami (1979). Pour chaque traitement, on maintient trois répétitions ainsi que des lots témoins. On procède aux observations sur les symptômes de la maladie et sur la mortalité larvaire. On utilise la mortalité cumulative pour l'analyse de probit pour obtenir les valeurs LC_{50} en utilisant Une Conception Complètement Aléatoire (Davis, 1967).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats sur la présence des champignons d'*Aspergillus* dans les échantillons des détritiques, des excréments des larves et des larves mortes recueillis au cours de l'élevage chawki dans les différentes zones séricicoles pendant les différentes saisons sont présentés dans le Tableau I. On détecte les champignons d'*Aspergillus* au taux de 52,50 – 72,50 ; 47,50-28,50 et 14-20 % respectivement dans les détritiques, les excréments et les larves mortes en hiver. La présence d'*Aspergillus* dans les échantillons recueillis est moins importante en été, elle est respectivement comprise entre 32,50 et 40 ; 27,50 et 30 et 5-7,50 % dans les détritiques, les excréments et les larves mortes. La présence d'*Aspergillus* est élevée pendant la saison des pluies (respectivement 65 à 77,50 ; 57,50 à 72,50 et 17,50 à 25 % dans les détritiques, les excréments et les larves mortes). On observe et on identifie trois espèces d'*Aspergillus* : *Aspergillus flavus* Link (jaune vert devenant vert avec l'âge), *A. tamarii* Kita (marron rouille) et *A. niger* (de couleur noire). On observe qu'*A. flavus* est présent dans la majorité des échantillons.

L'incidence élevée d'*Aspergillus* dans l'environnement d'élevage pourrait être due au fait qu'il peut pousser de manière saprophytique sur la surface du sol ainsi que sur les équipements d'élevage (Aoki et coll., 1972). Kawakami (1982) a remarqué que les conditions environnementales qui dominent dans les magnaneries pour les jeunes vers à soie sont aussi assez favorables au développement et à la multiplication de ces champignons. Un taux élevé de présence d'*Aspergillus*,

surtout d'*A. flavus* dans les zones d'élevage suggère soit que les processus de désinfection qui existent ne sont pas adaptés pour tuer les spores de ce champignon soit qu'elles sont devenues résistantes à la formoline, comme l'a suggéré Kawakami (1982).

Le pourcentage d'infestation par *Aspergillus* est de $11,44 \pm 1,24$ à $13,91 \pm 3,79$ en hiver, il passe de $3,75 \pm 0,75$ à 6 ± 1 % en été et atteint un maximum de $13,40 \pm 1,15$ à $16,83 \pm 2,08$ % pendant la saison des pluies chez les différentes lignées de vers à soie. De même, la présence d'aspergillose est élevée dans la zone de grainage bivoltine, Hassan (6 ± 1 à $16,83 \pm 2,08$ %) par comparaison à la zone de grainage polyvoltine ($3,75 \pm 0,75$ à $14,30 \pm 0,85$ %) et à la zone d'élevage hybride, Srirangpatana ($4,38 \pm 0,63$ à $13,91 \pm 3,79$ %).

La perte en récoltes de vers à soie due à *Aspergillus* est estimée sur la base du potentiel de rendement maximum pour la lignée de ver à soie. La perte de récolte potentielle maximum / 100 pontes saines varie de $1,35 \pm 0,73$ à $11,61 \pm 1,46$ kg pendant les différentes saisons et dans les différentes zones de grainage du ver à soie (Tableau II).

L'incidence élevée dans la zone de grainage bivoltine plus que dans la zone polyvoltine et hybride confirme les précédentes observations d'Israngkul et Sinchaisri (1973), d'Israngkul (1974) et de Chinnaswamy et Devaiah (1984) qui ont remarqué que les souches polyvoltines du ver à soie sont plus résistantes à l'infestation par *Aspergillus* que les souches de ver à soie bivoltines. De même, la variation de l'infestation par *Aspergillus* pendant les différentes saisons concorde avec l'étude de Chinnaswamy (1983) qui a rapporté que l'aspergillose est présente chez le ver à soie pendant toutes les saisons avec un niveau varié d'infestation d'une saison à l'autre.

On teste la pathogénicité de trois espèces, *A. flavus*, *A. tamarii* et *A. niger* qui sont isolées à partir des échantillons recueillis sur le terrain chez le ver à soie (CSR2 × CSR4). *A. niger* n'est pas pathogène pour le ver à soie puisqu'il n'entraîne pas de mortalité chez le ver à soie même à la densité la plus élevée de 1×10^8 conidies / ml. *A. flavus* et *A. tamarii* s'avèrent pathogènes pour le ver à soie et leurs valeurs LC₅₀ sont présentées dans le Tableau III. Les valeurs LC₅₀ les plus faibles pour *A. flavus* pendant le 1^{er}, le 2^{ème} et le 3^{ème} âge du ver à soie indiquent qu'*A. flavus* est plus pathogène qu'*A. tamarii*. La valeur LC₅₀ pour le 1^{er} âge est de $3,93 \times 10^3$ et de $5,86 \times 10^4$, pour le 2^{ème} âge de $8,81 \times 10^5$ et de $2,69 \times 10^6$ et pour le 3^{ème} âge de $1,42 \times 10^7$ et de $1,02 \times 10^8$ respectivement pour *A. flavus* et *A. tamarii*.

Les valeurs LC₅₀ pour *A. flavus* sont de $3,93 \times 10^3$ au 1^{er} âge et elles passent à $1,42 \times 10^7$ chez les larves du 3^{ème} âge. De même, la valeur LC₅₀ pour *A. tamarii* est de $5,86 \times 10^4$ au 1^{er} âge et elle passe à $1,02 \times 10^8$ chez les larves de vers à soie du 3^{ème} âge. Cette tendance à l'augmentation de la valeur LC₅₀ pour *A. flavus* et *A. tamarii* aux derniers âges indique que les larves du 1^{er} âge sont plus sensibles à l'infestation par *Aspergillus* que les derniers âges. Ces résultats sont plus ou moins similaires à ceux de Aoki (1971) qui a rapporté que la sensibilité du ver à soie à *Aspergillus* varie avec l'âge larvaire et qui a observé que les larves du 1^{er} âge sont très sensibles (100 % de mortalité) à *Aspergillus* plus que les larves du 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} âge. De même, Kawakami et Mikuni (1973) ont rapporté que la virulence d'*A. flavus* est la plus élevée chez les larves du 1^{er} âge d'un jour et qu'elle baisse au cours du temps.

EVALUATION OF AZADIRACHTIN FOR ITS VISIBLE RESIDUAL TOXICITY TO TASAR SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* D. (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)

S. P. SHARMA, RAM KISHORE, R. GUPTA, S. N. SINHADEO & B. R. R. P. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, P. O: Piska Nagri-835303, Ranchi, India.

Neem (Azadirachta indica A. Juss) has evoked worldwide interest on account of non-toxic, biodegradable and environment friendly qualities of its wide range of products including bio-pesticides, nitrogen fixers, human and veterinary medicines etc. One of the most important limonoid, Azadirachtin that satisfy all the features of safe pesticide has drawn global attention. Azadirachtin repels insects, inhibits feeding, affect their hormonal balance by preventing their maturation.

Extensive field and laboratory studies have been carried out to evaluate the efficacies of Azadirachtin against the adults and immature stages of major pests of primary tasar food plants, namely, Terminalia arjuna Bedd. and T. tomentosa W&A. Results reveal that foliar spray of aqueous solution of Azadirachtin (15 ppm) was effective in suppressing the coleopteran and lepidopteran pests. The safe period for tasar silkworm against Azadirachtin treated leaves was worked out and residual toxicity of Azadirachtin was estimated during rearing and grainage. Results of the study reveal that mortality of larvae decreased with increase in time interval between brushing of tasar silkworm larvae and foliar spray of Azadirachtin solution on T. arjuna leaves. Tasar silkworm rearing could be conducted safely after five days of application of aqueous solution of Azadirachtin without having adverse effects on the important parameters of tasar 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.

Keywords: *Azadirachta indica*, *Antheraea mylitta*, *Terminalia arjuna*, *T. tomentosa*, Azadirachtin, safe period, residual toxicity.

INTRODUCTION

The Psyllid, *Trioza fletcheri minor* Crawford (Homoptera: Psyllidae) and defoliators namely, *Anomala blanchardi* Blanch (Coleoptera: Scarabaeidae), *Triclistus picea* Jacoby and *T. variabilis* Jac. (Coleoptera: Chrysomelidae), *Mylokerus viridanus* Fab. (Coleoptera: Curculionidae) and *Notolophus antiqua* Linn. (Lepidoptera: Lymantriidae) are the major pests of primary tasar food plants, which cause 15-20% foliage loss (Thangavelu and Singh, 1991; Sharma *et al.*, 2002c). The coleopteran pests occur in all the stages of the plant growth; the adults feed on the foliage while the grubs damage the roots of the food plants (Thangavelu, 1984). The lepidopteran larvae cause foliar damage through voracious feeding. In tasar culture, pesticides are used to control these pests (Thangavelu and Singh, 1991). Growing concern for environment pollution has necessitated the identification of eco-friendly substitutes for synthetic insecticides. A series of experiments have been conducted to evaluate the efficacy of Azadirachtin against the pests of tasar food plants. It has been established that 15 ppm foliar spray of Azadirachtin is capable of controlling coleopteran and

lepidopteran pests of primary tasar food plants (Sharma *et al.*, 2000; 2001; 2002 a; 2002 b; 2002 c; 2002 d; 2002 e; 2002 f; 2002 g).

The indiscriminate and extensive use of insecticides for the control of insect pest has led to "ecological backlash" in the form of environmental pollution besides development of insect resistance to insecticides and resurgence (Sundararaj *et al.*, 1995). Moreover, 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 (*Azadirachta indica* A. Juss), an extremely potent among all the plant derivatives, has pronounced and exemplary biopesticidal properties (Sundararaj *et al.*, 1995). The potential of neem seed oil and seed extracts against several crop pests has been demonstrated (Saxena *et al.*, 1981; Jotwani, 1984; Schmutterer and Acher, 1984; Schmutterer, 1990; Mordue and Blackwell, 1993).

An attempt has been made in the present study to work out the residual toxicity of Azadirachtin to tasar larvae so that safe or waiting period for feeding of Azadirachtin treated leaves to tasar silkworm larvae is estimated to pave the way of successful rearing.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was laid down in randomized block design having eight treatments including control with five replications each having 50 healthy (ten years old) plants of *T. arjuna* during July-August (average maximum temperature-26.89° C, average minimum temperature-21.52° C and average relative humidity-90.91%). Azadirachtin (15 ppm) aqueous solution (dissolved 50 ml of Amrutguard solution-AI-0.03% in one liter of water) was prepared and sprayed on all the plants under various treatments. In control only water was sprayed. Five hundred newly hatched healthy larvae of tasar silkworm in five replications (100 × 5) were mounted on separate plants after one to seven days of foliar spray of Azadirachtin. Separate control was maintained with equal number of larvae in five replications. Tasar silkworm larvae of Daba Bivoltine race were reared following the method of Jolly (1972). In order to find out the effects of residual toxicity of Azadirachtin on tasar silkworm daily mortality of larvae was recorded throughout the rearing period. Further, in order to find out the impact of Azadirachtin in later stages of development, grainage operation was conducted and relevant data recorded. Replication-wise harvested cocoons were kept separately in 60 × 60 × 60 cm wooden cages for conducting grainage operation. Observations on the percent mortality of larvae were recorded up to 120 hours of brushing besides records of important parameters of rearing and grainage, namely larval period, effective rate of rearing percentage (ERR%), larval weight (g), shell weight (g), cocoon weight (g), silk ratio percentage (SR%), coupling percentage, fecundity and hatching percentage in all the treatments including control. The data thus obtained were subjected to statistical analysis (Kempthorne, 1952; Fisher and Yates, 1963).

RESULTS AND DISCUSSION

Residual toxicity of Azadirachtin (15 ppm) application was evaluated by recording data on rearing and grainage parameters of tasar silkworm larvae brushed after one to seven days of foliar spray on *T. arjuna* leaves. The mean mortality percentage and different parameters of rearing and grainage are presented in Table I, II and III. Results on percent mortality of larvae reveal that treatments T1, T2, T3, T4 were significantly different from control. The percent mortality of larvae decreased with increase in time interval between spraying of Azadirachtin solution and brushing of tasar silkworm larvae on *T. arjuna* leaves when compared with control. The results on rearing and grainage parameters reveal no significant difference in larval period, larval weight, cocoon weight, shell weight, silk ratio percentage, coupling percentage, fecundity and hatching percentage in different treatments and control. However, significant difference was noticed in ERR % in treatments, T1, T2

T3, T4 when compared with control. This difference is due to higher mortality percentage of larvae during first 96 hours of feeding with treated leaves showing the effect of residual toxicity. However, ERR% was not found significantly different in control and in T5, T6, and T7 (larvae brushed after five, six and seven days of spraying of Azadirachtin) which clearly indicate that 5 days from the treatment are enough waiting time to begin rearing of the tasar silkworm from first instar. The larval mortality up to 120 hours in T1, T2, T3, and T4 might have been due to the insecticidal properties of Azadirachtin (Sharma *et al.*, 2000). Therefore, an inference could be drawn that after five days of waiting period between spraying of Azadirachtin and brushing of tasar silkworm larvae, the residual toxicity of Azadirachtin was negligible. No significant difference in rearing and grainage performance parameters was noticed when compared with control. Feeding of *T. arjuna* treated leaves prior to safety period induced toxic symptoms in the larvae. The swinging of the anterior half of the body, vomiting of the digestive juice, shortening of the body due to loss of body fluid and muscle contraction followed by death were important symptoms noticed during the course of investigation. The toxic symptoms of tasar silkworm in the present studies are similar to that observed by Ramkishore *et al.* (1999).

Table I. Effect of Azadirachtin spray on larval mortality of tasar silkworm, *A. mylitta*.

Tableau I. Effet de la vaporisation d'azadiractine sur la mortalité larvaire du ver à soie tasar, *A. mylitta*.

Treatment	Time interval between spraying and brushing (hours)	Mean cumulative mortality percentage after (hours)				
		24	48	72	96	120
Traitement	Intervalle de temps entre la vaporisation et la levée (heures)	Pourcentage de mortalité cumulative moyenne après (heures)				
		24	48	72	96	120
T1	24	6.33 (3.63)	10.00 (5.74)	15.68 (9.02)	18.68 (10.77)	22.01 (12.71)
T2	48	5.67 (3.25)	9.00 (5.16)	13.68 (7.86)	16.61 (9.21)	17.01 (9.79)
T3	72	5.33 (3.06)	7.67 (4.40)	12.33 (7.09)	14.00 (8.05)	15.00 (8.63)
T4	96	2.67 (1.53)	4.67 (2.67)	8.33 (4.78)	11.00 (6.32)	13.00 (7.47)
T5	120	0.67 (0.38)	1.33 (0.76)	3.00 (1.72)	3.33 (1.91)	3.33 (1.91)
T6	144	0.67 (0.38)	1.33 (0.76)	3.33 (1.91)	3.00 (1.72)	3.00 (1.72)
T7	168	0.67 (0.38)	1.33 (0.76)	3.00 (1.72)	3.33 (1.91)	3.00 (1.72)
Control / Témoin	-	0.67 (0.38)	1.33 (0.76)	2.33 (3.63)	3.00 (1.72)	3.00 (1.72)
CD at 5% / DC à 5 %	-	1.56	1.74	2.81	3.21	2.61

The figures in parenthesis indicate the mean data after angular transformation. / Les chiffres entre parenthèses indiquent les données moyennes après la transformation angulaire

Table II. Effect of Azadirachtin on rearing parameters of tasar silkworm, *A. mylitta*.Tableau II. Effet de l'azadiractine sur les paramètres d'élevage du ver à soie tasar, *A. mylitta*.

Treatment	Cocoon parameters								
	Larval Weight (g)			Male			Female		
	Male	Female	ERR %	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	SR%	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	SR %
Traitement	Poids larvaire (g)			Paramètres du cocon					
				Mâle			Femelle		
	Mâle	Femelle		Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)		Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	
T1	22.08	33.52	8.80	8.07	0.89	11.19	12.74	1.28	10.02
T2	26.82	33.70	11.00	8.63	0.97	11.28	11.68	1.15	9.89
T3	25.88	36.24	18.40	8.24	0.93	11.22	11.76	1.15	9.66
T4	26.08	36.94	18.60	8.09	0.89	11.09	10.46	0.94	8.99
T5	25.22	36.24	37.20	8.68	0.96	11.13	10.52	0.96	9.16
T6	25.75	36.35	37.35	8.72	0.96	11.00	10.85	1.08	9.95
T7	25.90	35.72	38.36	8.45	0.98	11.59	11.20	1.06	9.63
Control / Témoin	25.46	35.34	38.80	8.98	0.98	11.09	11.09	1.01	9.09
CD at 5%	NS	NS	2.35	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DC à 5 %									

Table III. Effect of Azadirachtin on grainage parameters of tasar silkworm, *A. mylitta*.Tableau III. Effet de l'azadiractine sur les paramètres de grainage du ver à soie tasar, *A. mylitta*.

Treatment	Emergence %				
	Male	Female	Coupling %	Fecundity (numbers)	Hatching %
	% d'émergence				
	Male	Femelle	% d'accouplement	Fécondité (nombres)	% d'éclosion
T1	53.33	46.66	30.00	200.00	88.79
T2	52.50	47.50	27.50	232.00	88.53
T3	50.60	49.40	30.43	241.10	88.99
T4	52.68	47.32	25.33	199.70	87.99
T5	52.86	47.14	34.58	236.20	87.53
T6	52.12	47.88	30.62	210.00	87.99
T7	53.16	46.84	32.00	216.00	88.99
Control / Témoin	53.75	46.25	32.02	221.20	87.99
CD at 5% / DC à 5%	NS	NS	NS	NS	NS

Neem having remarkable power of controlling insects will usher into a new era of safe and natural pesticides (Ketkar, 1982; Koul *et al.*, 1990). It is a systemic insecticide and acts 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 are easily biodegradable and it is harder for the insect to develop resistance to inherent combination of chemicals derived from plants than to the single synthetic compound (Sidhu, 1995). The seed and leaves of neem tree yield Azadirachtin, a compound that has an immense potential as an insect repellent. Biswas *et al.* (1995) reported that Azadirachtin consists of 20 ingredients, and it is difficult for any insect to develop resistance to all of them. In view of the above facts it may be concluded that 15 ppm Azadirachtin was effective in controlling the major pests of tasar food plants and tasar silkworm rearing could be conducted successfully after five days of treatment.

ACKNOWLEDGEMENTS

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

REFERENCES

- BISWAS S., SINGH P., CHANDRA S. (1995) Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) – A versatile multipurpose tree. *Indian Forester*, 12 (11), 1057-1062.
- FISHER R.A., YATES F. (1963) *Statistical table for Biological and Medical Research*, Longman, England, P. 66.
- JOLLY M.S. (1972) A new technique of tasar silkworm rearing. *Indian Silk*, 11: 5-9.
- JOTWANI M.G., K.P. (1984) A review of neem research in India in relation to insects. *Proc. 2nd Int. Neem Conf.*, (Rauischholzhausen, 1983), 43-56.
- KEMPTHORNE O. (1952) *The design and analysis of experiment*, John Willey Son Inc. London, p. 63.
- KETKAR C.M. (1982) Properties and uses of neem (*Azadirachta indica* A.Juss) – Its products and by-products. (Eds. Atal, C.K. and Kapur, B.M.) *Cultivation and Utilization of Medicinal Plants*, RRL, Jammu Tawi, India.
- KOUL O., ISMAN M.B., KETKAR C.M. (1990) Properties and uses of neem (*Azadirachta indica*). *Canad. J. Bot.*, 68(1), 1-11.
- MORDUE A.J., BLACKWELL A. (1993) Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.*, 39, 903-924.
- RAM KISHORE, GUPTA R., PRASAD B. C., SINHA B. R. R. P. (1999) Studies to determine waiting period for feeding treated leaves with commercial insecticides to tasar silkworm larvae, *Antheraea mylitta* D. Uttar Pradesh J. Zool., 19(2), 131-137.
- SAXENA R.C., LIQUIDO N.J., JUSTTO H.D. (1981) Neem seed oil a potential antifeedant for the control of rice brown plant hopper *Nilaparvata lugens*. *Proc. 1st Int. Neem Conf.*, (Rottach-Egern, 1980), 171-188.
- SCHMUTTERER H.R. (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. *Ann. Rev. Entomol.*, 35, 271-297.
- SCHMUTTERER H.R., ACHER R S. (1984) Natural pesticides from the neem and other tropical plants. *Proc. 2nd Int. Neem Conf.*, Rauisch-Holzhausen Castle, Giessen University, 25-28 May, 1983, Eschborn, W.Germany: 587 pp.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE THANGAVELU K. (2000) Development of control measures for major defoliators of primary tasar food plants through neem derivatives. *Annual Report, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi (1999-2000)*, 41.

- SHARMA S.P., RAM KISHORE, THANGAVELU K. (2001) Development of control measures for major defoliators of primary tasar food plants through neem derivatives. *Annual Report*, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi (2000-2001), 39-42.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE, THANGAVELU K. (2002 a) Evaluation of Azadirachtin against *Notolophus antiqua* Linn. (Lepidoptera: Lymantriidae) a pest of primary tasar food plants. *Sericologia*, 42(2), 265-269.
- SHARMA S.P., RAM KISHORE, THANGAVELU K. (2002 b) Evaluation of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) derivatives against immature stages of *Anomala blanchardi* Blanch. (Coleoptera: Scarabaeidae) a major pest of primary tasar food plants. *Ann. Ent.* (in press).
- SHARMA S.P., RAM KISHORE, THANGAVELU K. (2002 c) IPM approach for the control of major defoliators of primary tasar food plants. *Indian Forester* (in press).
- SHARMA S. P., RAMKISHORE, SHARAN S. K., THANGAVELU K. (2002 d) 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, SINHADEO S. N., SINHA B. R. R. P (2002 e) Evaluation of Azadirachtin on mortality and feeding inhibition efficacy on *Anomala blanchardi* Blanch. (Coloptera: 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 f) Role of Integrated Pest Management in cocoon yield improvement. *Proceeding of XIXth Congress of the International Sericulture Commission*, Bangkok, 291-295.
- SHARMA S. P., PRASAD B. C., RAKESH GUPTA, RAMKISHORE, RAI S., SINHA B.R.R.P., THANGAVELU K. (2002g) Effect of pruning schedule on the incidence of *Trioza fletcheri* minor Crawford (Homoptera: Psyllidae) in primary tasar food plants. *Sericologia*, 42(2), 187-192
- SIDHU D.S. (1995) Neem in Agro-forestry as a source of plants derived chemicals for pest management. *Indian Forester*, 121(1), 1012-21.
- SUNDARARAJ R., MURUGESAN S., MISHRA R.N. (1995) Efficacy of neem seed oil against the babul whitefly, *Acaudaleyrodes rachipora* (Singh) (Aleyrodidae: Homoptera). *Indian Forester*, 121(11), 1077-79.
- THANGAVELU K. (1984) Studies on Ash weevil involving population dynamics and management practices in cotton. *Cotton Devt.*, 14 (2&3), 31-33.
- THANGAVELU K., SINGH R.N. (1991) Integrated pest management in tasar culture. *Ann. Entomol.*, 9(2), 59-65.

EVALUATION DE LA TOXICITE RESIDUELLE VISIBLE DE L'AZADIRACTINE POUR LE VER A SOIE TASAR, *ANTHERAEA MYLITTA D.* (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S. P. SHARMA, RAM KISHORE, R. GUPTA, S. N. SINHADEO & B. R. R. P. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, P. O. Piska Nagri –835 303, Ranchi, Inde.

Il existe un intérêt mondial pour le margousier (*Azadirachta indica* A. Juss) en raison des qualités non-toxiques, biodégradables et non nuisibles à l'environnement de la gamme étendue de ses produits dérivés parmi lesquels on compte les bio-pesticides, les fixateurs d'azote, les médicaments pour les êtres humains et les animaux, etc... L'un des limonoïdes les plus importants, l'azadiractine qui répond à toutes les caractéristiques de pesticide sans risque a attiré l'attention générale. L'azadiractine repousse les insectes, inhibe leur alimentation et affecte leur équilibre hormonal en empêchant leur maturation.

On a réalisé des études poussées sur le terrain et en laboratoire pour évaluer l'efficacité de l'azadiractine contre les adultes et les stades immatures des principaux parasites des plantes hôtes primaires du tasar, *Terminalia arjuna* Bedd. et *T. tomentosa* W & A. Les résultats révèlent l'efficacité de la vaporisation foliaire de solution aqueuse d'azadiractine (15 ppm) pour supprimer les parasites coléoptères et lépidoptères. On a calculé la durée pendant laquelle on peut utiliser des feuilles traitées à l'azadiractine sans risque pour le ver à soie tasar et on a estimé la toxicité résiduelle de l'azadiractine pendant l'élevage et le grainage. Les résultats de l'étude révèlent que la mortalité larvaire baisse avec l'augmentation de l'intervalle de temps entre la levée des larves de vers à soie et la vaporisation foliaire de la solution d'azadiractine sur les feuilles de *T. arjuna*. On a pu procéder à l'élevage du ver à soie tasar sans risque cinq jours après l'application de solution aqueuse d'Azadiractine et sans effet adverse sur les paramètres importants d'élevage et de grainage tels que le taux effectif 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.

INTRODUCTION

Le psylle, *Trioza fletcheri minor* Crawford (Homoptera : Psyllidae) et les défoliants en l'occurrence *Anomala blanchardi* Blanch (Coleoptera : Scarabaeidae), *Triclistia picea* Jacoby et *T. variabilis* Jac. (Coleoptera : Chrysomelidae), *Mylocherus viridanus* Fab. (Coleoptera : Curculionidae) et *Notolophus antiqua* Linn. (Lepidoptera : Limntriidae) sont les principaux parasites des plantes hôtes primaires du tasar, qui entraînent une perte de feuillage de l'ordre de 15 à 20 % (Thangavelu et Singh, 1991 ; Sharma et coll., 2002c). Les parasites coléoptères sont présents à tous les stades de croissance des plantes ; les adultes se nourrissent sur le feuillage tandis que les larves abîment les racines des plantes hôtes (Thangavelu, 1984). Les larves lépidoptères abîment le feuillage en s'alimentant voracement. Dans l'élevage du tasar, on utilise des pesticides pour lutter contre ces parasites (Thangavelu et Singh, 1991). La préoccupation croissante en matière de pollution environnementale a entraîné l'identification de substituts des insecticides synthétiques, non nuisibles à l'environnement. Une série d'expériences a été réalisée pour évaluer l'efficacité de l'azadiractine contre les parasites des plantes hôtes du tasar. On en a déduit qu'une vaporisation foliaire de 15 ppm d'azadiractine est capable de

lutter contre les parasites coléoptères et lépidoptères des plantes hôtes primaires du tasar (Sharma et coll., 2000 ; 2001 ; 2002a ; 2002b ; 2002c ; 2002d ; 2002e ; 2002f ; 2002g).

L'utilisation à tort et à travers et abusive des insecticides pour lutter contre les insectes parasites a eu des retombées sur le plan écologique et a entraîné une pollution environnementale et le développement de la résistance des insectes aux insecticides ainsi que leur résurgence (Sundaraj et coll., 1995). De plus, les insecticides ne peuvent pas être utilisés pendant l'élevage, puisque le ver à soie ne peut pas tolérer les composés toxiques même à des doses en-dessous du niveau mortel (Thangavelu et Singh, 1991). Du coup, des études ont été réalisées sur la possibilité d'utiliser des substances chimiques dérivées des plantes. Il existe une documentation abondante sur les propriétés biopesticides prononcées et exemplaires du margousier (*Azadirachta indica* A. Juss), un dérivé de plante très puissant (Sundararaj et coll., 1995). On a démontré le potentiel de l'huile de graine de margousier et des extraits de graine contre plusieurs parasites (Saxena et coll., 1981 ; Jotwani, 1984 ; Schmutterer et Acher, 1984 ; Schmutterer, 1990 ; Mordue et Blackwell, 1993).

Dans cette étude, nous avons essayé d'évaluer la toxicité résiduelle de l'azadiractine sur les larves du tasar afin de déterminer la période de sécurité ou d'attente pour nourrir les larves du ver à soie avec des feuilles traitées avec de l'azadiractine et réussir l'élevage.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience est conçue selon une disposition en blocs aléatoires comprenant huit traitements et un témoin avec cinq répétitions de 50 plants sains (âgés de dix ans) de *T. arjuna* en juillet-août (température maximum moyenne 26,89° C, température moyenne minimum 21,52° C et humidité relative moyenne 90,91 %). On prépare une solution aqueuse d'azadiractine (15 ppm) (dissolution de 50 ml de solution d'Amrutguard – AI-0,03 % dans un litre d'eau) et on la vaporise sur tous les plants en fonction des différents traitements. Pour le témoin on ne vaporise que de l'eau. On fait lever cinq cent larves saines du ver à soie tasar venant d'éclore en cinq répétitions (100 × 5) sur des plants séparés, un à sept jours après la vaporisation foliaire d'azadiractine. On maintient un témoin séparé avec un nombre égal de larves en cinq répétitions. On élève les larves de ver à soie tasar de la race bivoltine Daba en suivant la méthode de Jolly (1972). Pour évaluer les effets de la toxicité résiduelle de l'azadiractine chez le ver à soie tasar, on enregistre quotidiennement la mortalité des larves pendant la période d'élevage. De plus, on réalise une opération de grainage et on enregistre les données pertinentes pour déterminer l'impact de l'azadiractine pendant les derniers stades de développement. On conserve les cocons recueillis en fonction des répétitions séparément dans des cages en bois de 60 × 60 × 60 cm pour réaliser l'opération de grainage. On enregistre les observations sur le pourcentage de mortalité des larves jusqu'à 120 heures après la levée et sur les paramètres d'élevage et de grainage importants tels que la durée larvaire, le taux effectif d'élevage (% ERR), le poids larvaire (g), le poids de la coque (g), le poids du cocon (g), le pourcentage de richesse soyeuse (% RS), le pourcentage d'accouplement, le pourcentage de fécondité et d'éclosion pour tous les traitements y compris pour le témoin. On soumet les données ainsi obtenues à l'analyse statistique (Kempthorne, 1952 ; Fisher et Yates, 1963).

RESULTATS ET DISCUSSION

On évalue la toxicité résiduelle de l'application d'azadiractine (15 ppm) en enregistrant les données sur les paramètres d'élevage et de grainage pour les larves du ver à soie tasar levées sur des feuilles de *T. arjuna* un à sept jours après la vaporisation foliaire. Le pourcentage de mortalité moyenne et les différents paramètres d'élevage et de grainage sont présentés dans les Tableaux I, II et III. Les résultats sur le pourcentage de mortalité des larves révèlent que les traitements T1, T2, T3, T4 sont significativement différents du témoin. Le pourcentage de mortalité des larves baisse avec l'augmentation de la durée entre la vaporisation de la solution d'Azadiractine et la levée des larves

du ver à soie tasar sur les feuilles de *T. arjuna* quand on le compare au témoin. Les résultats sur les paramètres d'élevage et de grainage ne révèlent pas de différence significative pour la durée larvaire, le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le pourcentage de richesse soyeuse, le pourcentage d'accouplement, le pourcentage de fécondité et d'éclosion entre les différents traitements et le témoin. Cependant, on remarque une différence significative pour le % ERR avec les traitements T1, T2, T3, T4 par comparaison au témoin. Cette différence est due au pourcentage de mortalité plus élevé des larves pendant les 96 premières heures d'alimentation avec les feuilles traitées, ce qui montre l'effet de la toxicité résiduelle. Cependant, on ne trouve pas que le % ERR soit significativement différent chez le témoin et chez T5, T6 et T7 (larves levées cinq, six et sept jours après la vaporisation d'azadiractine), ce qui montre clairement qu'en attendant 5 jours après le traitement, cela est suffisant pour commencer l'élevage du ver à soie tasar à partir du premier âge. La mortalité larvaire jusqu'à 120 heures avec T1, T2, T3 et T4 pourrait être due aux propriétés insecticides de l'azadiractine (Sharma et coll., 2000). On peut donc en déduire qu'en attendant cinq jours entre la vaporisation d'azadiractine et la levée des larves du ver à soie tasar, la toxicité résiduelle de l'azadiractine est négligeable. Il n'y a pas de différence significative pour les paramètres concernant la performance d'élevage et de grainage par comparaison au témoin. L'alimentation avec des feuilles de *T. arjuna* traitées avant la période de sécurité induit des symptômes toxiques chez les larves. Les symptômes majeurs que l'on remarque au cours de l'étude sont le balancement de la moitié antérieure du corps, le vomissement du liquide digestif, le rétrécissement du corps dû à la perte de liquide corporel et la contraction des muscles qui est suivie par la mort. Les symptômes toxiques chez le ver à soie tasar dans ces études sont similaires à ceux observés par Ramkishore et coll., (1999).

Le pouvoir remarquable du margousier pour lutter contre les insectes annonce l'entrée dans une nouvelle ère d'utilisation de pesticides inoffensifs et naturels (Kotkar, 1982 ; Koul et coll., 1990). C'est un insecticide systémique et il agit de deux manières, d'abord comme repoussoir et inhibiteur de l'alimentation (anti-appétent), ensuite il dérègle l'équilibre hormonal de l'insecte de sorte que les insectes sont affectés de manière permanente (Biswas et coll., 1995). Les extraits de margousier sont facilement biodégradables et il est plus difficile pour l'insecte de développer une résistance à une combinaison inhérente de substances chimiques dérivées des plantes qu'à un composé synthétique unique (Sidhu, 1995). La graine et les feuilles de l'arbre de margousier donnent l'azadiractine, un composé au potentiel immense comme repoussoir des insectes. Biswas et coll., (1995) ont rapporté que l'azadiractine est constituée de 20 ingrédients et qu'il est difficile pour n'importe quel insecte de développer une résistance à tous ces ingrédients. Compte tenu des éléments présentés ci-dessus, on peut conclure sur l'efficacité de 15 ppm d'azadiractine pour lutter contre les principaux parasites des plantes hôtes du tasar et procéder à un élevage réussi du tasar en attendant cinq jours après le traitement.

IN VITRO EVALUATION OF SOME LOCALLY ISOLATED MICROFUNGI FOR ANTAGONISM AGAINST MULBERRY FUSARIAL BLIGHT PATHOGEN (*FUSARIUM PALLIDOROSEUM* (COOK) SAAC.)

N. A. MUNSHI & G. H. HASSAN DAR*

Division of Sericulture, SK University of Agricultural Sciences & Technology of Kashmir (SKUAST – K), Post Box 674, GPO Srinagar – 190 001, Kashmir, India.

*The antagonistic activities of 11 indigenous isolates belonging to 9 fungal species were evaluated in vitro against mulberry fusarial blight pathogen *Fusarium pallidoroseum* by agar plug, dual culture and culture filtrate methods. In agar plug method, *Trichoderma viride* isolate "A" and isolate "M" caused maximum inhibition in pathogenic growth, followed by *Chaetomium indicum*, *T. viride* isolate "T", *Aspergillus flavus* and *Gliocladium roseum*. All the four isolates of *Trichoderma* were highly antagonistic in dual culture whereas *C. indicum* proved antagonistic and *Trichothecium roseum* and *Paecilomyces variotic* moderately antagonistic. Maximum inhibition in mycelial growth (68.4%), sporulation (94.3%) and spore germination (95.5%) of *F. pallidoroseum* was observed due to the culture filtrate *Trichothecium roseum* followed by *C. indicum*, *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzranum*. The mechanism of antagonism was either hyper-parasitism or competition or antibiosis.*

Keywords: Antagonism, biological control, *Fusarium pallidoroseum*, mulberry, mycelial growth inhibition, sporulation.

INTRODUCTION

Fusarial blight (*Fusarium pallidoroseum* (Cook) Sacc.) is one of the major devastating disease of mulberry prevalent in both tropical and temperate regions of the world. The disease is widespread in all the mulberry farms of Kashmir valley throughout the growing season on all types of plantation. Both exotic and indigenous varieties available in the Germplasm Bank, Division of Sericulture SKUAST-K, Mirgund are prone to this disease showing varying degree of tolerance / susceptibility (Munshi, 1998). The disease causes blighting of leaves and twigs besides dieback, basal rot and cutting rot. The blighting affects the quality and quantity of leaves. Many fungicides are reported to be effective in combating the disease (Govindaiah *et al.*, 1990; Mandal, 1993; Munshi, 1998), however, growers seem reluctant to use them mainly because of economical constraints and apprehension of residual toxicity to silkworm (*Bombyx mori* L.). This has focused the attention of mulberry researchers on the use of eco-friendly methods to manage the disease. Biological control of plant diseases is considered a potential viable alternative to chemical control (Fokkema, 1993; Singh and Faull, 1993). Many rhizosphere fungi have been reported to be antagonist to many pathogenic fungi (Pandey and Upadhyay, 2000; Sharma and Sharma, 2001) but their nature and magnitude of antagonism vary. Local isolates, if any, are generally considered better adaptive and competitive. The

* Division of Plant Pathology, SKUAST-K, Shalimar, Srinagar – 191 121, Kashmir, India.

present investigation reports the bioefficacy of various indigenous isolates against mulberry fusarial blight pathogen (*F. pallidoroseum*) under *in vitro* conditions.

MATERIALS AND METHODS

The pathogen (*F. pallidoroseum*) was isolated from mulberry twigs on modified peptone-yeast extract agar (MPYEA) medium (Munshi, 1998). The fungi evaluated for their *in vitro* bioefficacy against pathogen were *Trichoderma viride* Pers. ex. Gray isolate "A" and *Chaetomium indicum* Corda isolated from apple rizosphere (Munshi et al., 2001), *T. viride* isolate "M" and *T. harzianum* Rifai isolate "C" isolated from compost of *Pholiota* sp. and *Coprinus comatus* Fr. mushrooms, respectively), *T. viride* isolate "T" isolated from tulip rhizosphere, *Paecilomyces variotii* Bain., *Gliocladium roseum* Bain, *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bain, *Aspergillus flavus* and *A. terreus* isolated from mulberry rhizosphere and "*Trichothecium roseum*" isolated from pruned moistened twigs of mulberry. The above biocontrol agents were isolated on potato dextrose agar (PDA) medium by dilution plate technique and efficacy evaluated *in vitro* by agar plug, dual culture and culture filtrate methods (Shivapratap et al., 1996).

In agar plug method, the spore suspension of pathogen was poured in sterilised 90 mm petriplates containing MPYEA medium. The seeded plates were then stored in refrigeration at 4° C and used as when required. Three 7 mm discs of biocontrol agents, grown on PDA, were placed at equidistance on seeded plates and incubated at $28 \pm 2^\circ$ C for 4 days. The clear distance between the periphery of agar plug and growth of pathogen was considered as inhibition zone (Takahashi et al., 1979) and its area calculated by using formula $\Pi(R^2 - r^2)$; where "R" is the radius of inhibition zone, and "r" the radius of agar plug.

In dual culture method 7 mm dia. plugs of test pathogen and biocontrol agents were placed 80 mm away from each other on the opposite sides of 90 mm petri-plates containing about 25 ml MPYEA medium. The pathogen was transferred on the medium 24 hr before the placement of biocontrol agent. For each biocontrol agent three separate sets were maintained and incubated at $28 \pm 2^\circ$ C for 10 days. Based on the growth and mycoparasitic nature, biocontrol agents were grouped into six categories as under with some modification of 5 category scale given by Bell et al. (1982).

i) Strong antagonist : Growth of biocontrol agent very fast, covered the entire medium surface and completely overgrew the pathogen.

ii) Antagonist : Growth of biocontrol agent very fast, covered at least $2/3^{\text{rd}}$ medium surface but without showing mycoparasitic nature.

iii) Moderate antagonist : Growth of biocontrol agent slow but rapidly overgrew the pathogen once in contact.

iv) Slow antagonist : Growth of biocontrol agent and pathogen similar in magnitude, none appeared to be dominant to other.

v) Poor antagonistic : Growth of the pathogen fast, colonized at least $2/3^{\text{rd}}$ medium surface and appeared to withstand encroachment by the biocontrol agent.

vi) Non-antagonist: Growth of the pathogen very fast, completely overgrew the biocontrol agent and covered entire medium surface.

The mode of mycoparasitism between antagonist and pathogen was studied by visual and periodic microscopic examinations.

The culture filtrate of biocontrol was evaluated against the pathogen *in vitro* by food poison technique (Schmitz, 1930). The cultures of biocontrol agents, grown on MPYEA broth in Erlenmeyer flask at $28 \pm 2^\circ$ C for 15 days, were filtered through Whatman filter paper No. 42, and the filtrate subject to repeated centrifugation at 9000 rpm. *F. pallidoroseum* was grown on MPYEA agar medium supplemented with culture filtrate / metabolite of biocontrol agent (4 :1 v/v). The media without

culture filtrate served as control. The experiment was laid in a completely randomised design and each treatment replicated thrice. Growth of the fungus was measured on 8th day.

The effect of culture filtrate on spore suppression of *F. pallidoroseum* was studied by taking 4 mm mycelial disc of the pathogen from above set of experiment from different places. These were macerated thoroughly in 5 ml sterilised distilled water to release spores. The average number of spores per microscopic field ($\times 600$) was counted from 20 observations taken from treated and control sets. The effect of culture filtrate on spore germination was studied in cavity slide kept in moisture chambers. The percent production and spore germination were calculated by the formula of Vincent (1947).

RESULTS AND DISCUSSION

All the biocontrol agents tested, except *S. brevicaulis*, inhibited the growth of *F. pallidoroseum* in agar plug method. Also, the culture filtrate of these organisms significantly inhibited the growth of test pathogen and reduced its spore production and germination (Table I). The inhibition in mycelial growth, spore production and spore germination due to culture filtrate of biocontrol agents varied from 11.5 to 68.5%, 12.3 to 94.3% and 14.5 to 95.5%, respectively. The four isolates of *Trichoderma* tested showing strong antagonist property against the pathogen in dual culture, covered the entire medium surface and completely overgrew the pathogen within 4 days. Interaction between *T. viride* isolates, *T. harzianum* and *F. pallidoroseum* revealed that antagonists overcoiled on the pathogen colony from upper side, caused lysis as well as metabolites of antagonist pressing beneath the colony pathogen. *T. viride* isolate "A" exhibited maximum mycelial growth inhibition (73.4 cm²) in agar plug method followed by *C. indicum* (46.6 cm²). *Trichoderma* species are reported to exhibit competition, hyperparasitism and antibiosis in a number of cases (Blakeman and Fokkema, 1982; Ali-Haimoud *et al.*, 1995). *T. viride* has been effectively used against many species of *Fusarium* and *Dematophora necatrix* in many crops like tomato, beans, mulberry, apple, pigeon pea etc. (Ychia *et al.*, 1985; Dercole and Nipoti, 1986; Latha *et al.*, 1993; Pandey and Upadhyay, 2000; Sharma and Sharma, 2001). The strong antagonistic action in present cases is attributed to the production of antimicrobial metabolites as well as hyperparasitism.

C. indicum proved antagonistic in dual culture as it quickly covered two-third of the medium surface and restricted the growth of pathogen without any mycoparasitic action. The pathogen was not lysed because after re-isolation from the over colonized area, it yielded viable colony of *F. pallidoroseum*. The culture filtrate of *C. indicum* caused 46.5% inhibition in pathogenic growth, and 77.1 and 83.7% reduction in sporulation and spore germination, respectively. The inhibition observed in present study corroborate with the findings of Chang and Komedalil (1972) wherein the culture filtrate of sister species *C. globosum* and *C. bostrychodes* showed antagonistic properties against *Fusarium*.

Trichothecium roseum though produced comparatively less inhibition zone in agar plug but its culture filtrate produced a maximum of 68.5% inhibition in the mycelium growth of pathogen and suppressed spore production and germination of *F. pallidoroseum* by 94.3 and 95.5% respectively. However, in dual culture *T. roseum* and *P. variotii* proved moderate antagonists and once in contact lysed the pathogen rapidly as evidenced by visual microscopic examinations. *T. roseum* has previously been reported to colonise *Sclerotinia sclerotiorum* (Rai and Saxena, 1975) and its filtrate is reported to contain antifungal mycotoxin trichothecin (Maksimova and Grushina, 1974).

In present study, *C. indicum*, *T. harzianum*, *P. variotii*, *A. flavus* and all tested isolates of *Trichoderma* inflicted 30% reduction in mycelial growth of pathogen, 40% reduction in spore production and 50% reduction in spore germination. *G. roseum*, *P. variotii*, *T. harzianum* and *A. flavus* or their culture filtrates were effective in inhibiting the pathogenic growth but the magnitude of inhibition was lesser than *T. viride*, *C. indicum* or *T. roseum*.

Table I. *In vitro* interactions between bio-control agents and *Fusarium pallidoroseum*.Tableau I. Interactions in vitro entre les agents de lutte biologique et *Fusarium pallidoroseum*.

Bio-control agent	Culture filtrate							Dual culture*
	Agar plug (mean area of inhibition zone in cm)	Colony diameter of <i>F. pallidoroseum</i>		Spores production		Spore germination		
		Area (mm)	% . inhibition over control	No of spores / microscopic field	% inhibition over control	% germi- nation	% inhibition over control	
Filtrat de culture								
Agent de lutte biologique	Tampon agar (surface moyenne de la zone d'inhibition en cm)	Diamètre de la colonie de <i>F. pallidoroseum</i>		Production de spores		Germination de spores		Culture double*
		Surface (mm)	% d'inhibition par rapport au témoin	Nbre de spores / d'inhibition champ micros- copique	% d'inhibition par rapport au témoin	% de germi- nation	% d'inhibition par rapport au témoin	
<i>Aspergillus flavus</i>	29.73 (5.54) ^{cd}	6.27 ^{dc}	30.10	24.00 ^e	40.97	46.33 (42.89) ^e	53.67	PA
<i>Aspergillus terreus</i>	9.52 (3.23) ^f	7.50 ^f	16.39	29.00 ^f	28.68	74.74 (59.89) ^f	25.26	PA
<i>Chaetomium indicum</i>	46.60 (6.89) ^b	4.80 ^b	46.48	9.33 ^b	77.05	16.34 (23.79) ^b	83.66	A
<i>Gliocladium roseum</i>	27.79 (5.34) ^d	6.73 ^e	24.97	25.33 ^e	37.70	26.29 (30.80) ^d	73.71	PA
<i>Paecilomyces variotii</i>	18.09 (4.35) ^c	6.20 ^d	30.88	24.33 ^c	40.16	17.54 (24.72) ^{bc}	82.46	MA
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0.00 (1.00) ^g	7.93 ^f	11.59	36.57 ^g	12.27	85.54 (68.41) ^g	14.46	NA
<i>Trichoderma harzianum</i>	18.91 (4.45) ^e	5.70 ^{cd}	36.45	19.67 ^d	51.62	19.62 (26.25) ^c	80.38	SA
<i>Trichothecium roseum</i>	36.54 (6.12) ^c	2.83 ^a	68.45	2.33 ^a	94.27	4.46 (12.15) ^a	95.54	MA
<i>Trichoderma viride</i> (A)	73.41 (8.62) ^a	5.47	39.02	17.67 ^d	56.54	11.97 (20.21) ^b	88.03	SA
<i>Trichoderma viride</i> (M)	64.04 (8.04) ^a	5.77 ^d	35.67	17.33 ^d	57.38	13.43 (21.39) ^b	86.57	SA
<i>Trichoderma viride</i> (T)	36.74 (6.12) ^c	5.17 ^{bc}	42.36	13.00 ^c	68.03	19.94 (26.43) ^{cd}	80.06	SA
Control / Témoin	-	8.97 ^g	-	40.66 ^h	-	100.00 (90.00) ^h	-	-
SEM±	0.23	0.19	-	1.11	-	1.80	-	-
CV	7.46	5.50	-	8.90	-	8.37	-	-
CD (P = 0.05)	(0.68)	0.58	-	3.22	-	(5.26)	-	-

SA = Strong antagonist / Antagoniste puissant ; A = Antagonist / Antagoniste ; MA = Moderate antagonist / Antagoniste modéré ; PA = Poor antagonist / Faible antagoniste ; NA = Non-antagonist / Non antagoniste. Means followed by similar letter(s) are statistically identical; Figures within parenthesis are square root transformation values with $y = \sqrt{x+1}$. Les moyennes suivies par une ou plusieurs lettres similaires sont identiques sur le plan statistique. Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs de transformation de la racine carrée avec $y = \sqrt{x+1}$.

The results of the present study revealed that *T. viride*, *C. indicum*, *T. roseum*, *P. variotii* and *G. roseum* possess antagonistic properties against *F. pallidoroseum* by virtue of either hyperparasitism or competition or antibiosis and could be used as potential biocontrol agents in disease management. However, evaluation of their field efficacy and bioassay on silkworm is warranted before adoption of such eco-friendly measures.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to the Professor and Head, Division of Sericulture, SKUAST-K, Mirgund, Baramulla (Kashmir) for providing facilities for the study.

REFERENCES

- ALI-HAIMOUD, D. E., MOSTAFA M., BARRAULT G., ALBERTINI L. (1993) Evaluation of organism antagonistics to the Sclerotoid organs of *Drechslera teres*, the causal agent of Barley net blotch. *Plant Dis.*, 77, 1251-1255.
- BELL D. K., WELLS H. D., MARKHAM C. R. (1982) *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382.
- BLAKEMAN J. P., FOKKAMA N. J. (1982) Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopath.*, 20, 167-192.
- BRAIN P. W., CURTIS P. J., HEMMING H. G., MCGOWAN J. C. (1946) The production of viridin by pigment forming strains of *Trichoderma viride*. *Ann. Appl. Biol.*, 33, 190-200.
- CHANG M. I., KOMMEDAHL T. (1972) Interaction among micro-organisms occurring naturally and applied to pericarps of corn kernels. *Pl. Dis. Repr.*, 56, 861-863.
- DERCOLE N., NIPOTI P. (1986) Biological control of *Fusarium* and *Verticillium* infections in tomato under protected cultivation. *Culture Protette*, 15, 55-59.
- FOKKAMA N. J. (1993) Opportunities and problems of control of foliar pathogens with micro-organism. *Pesti. Sci.*, 37, 411-416.
- GOVINDAIAH, SHARMA D. D., SINGHAL B. K., SENGUPTA K. (1990) *Fusarium pallidoroseum* (Cook) Saac, A new pathogen causing leaf blight in mulberry. *Indian J. Seric.*, 29, 291-292.
- LATHA J., GOVINDAIAH, DATTA R. K. (1993) *In vitro* toxic effect of culture filtrate of *Trichoderma* species against *Fusarium pallidoroseum* causing leaf blight in mulberry. *Indian J. Seric.*, 32, 121-123.
- MAKSIMOVA R. A., GRUSHINA V. A. (1974) The inhibition effect of trichothecin on germination of *Trichothecum roseum* strain, producing the antibiotic, Mikol. Fitopat., 8, 431-434.
- MANDAL S. K. (1993) Twig blight and a new leaf spot disease of mulberry. *Indian Silk*, 32(3), 51-52.
- MUNSHI N. A. (1998) Studies on the fusarial blight of mulberry (*Morus* spp.). Ph. D. thesis, SKUAST, J & K, 214 p.
- MUNSHI N. A., MIR N. A., QAZI, N. A., DAR G. H., DAR G. M. (2001) Some unreported fungi from Kashmir, isolated from mulberry and apple rhizosphere and shaggymane mushroom. *Appl. Biol. Res.*, 3, 61-62.
- PANDEY K. K., UPADAYAY J. P. (2000) Microbial population from rhizosphere and non-rhizosphere soil of pigeon pea: Screening of resident antagonists and mode of mycoparasitism. *Indian J. Mycol. Pl. Pathol.*, 30, 7-10.
- RAI J. N., SAXENA V. C. (1975) Sclerotial microflora and its role in natural biological control of white rot disease. *Pl. Soil.*, 43, 509-513.
- SCMITZ H. (1930) Poisoned Food Technique. *Indust. Engg. Chem. Analyst* ED, p. 361.
- SHARMA M., SHARMA S. K. (2001) Biocontrol of *Dematophora necatrix* causing white root rot of apple. *Pl. Dis. Res.*, 16, 40-45.
- SHIVAPRATAP H. R., PHILIP T., SHARMA D. D. (1996) *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against mulberry leaf spot pathogen, *Cercospora moricola*. *Indian J. Seric.*, 35, 107-110.

- SINGH J., FAULL J. L. 1993. Antagonism and biological control. pp. 167-177. In: Biocontrol of Plant Diseases, Volume II (Eds. K. G. MUKERJI and K. L. GARG), CRC Press, Inc. Boca Raton, USA.
- TAKAHASHI S., YUAKOYOSHIDA, SHOICHIAMANA, MICHIC C. K., SHIGEHARU I., TARO N. (1979) Studies on actinomycetes producing antibiotics only on agar culture (i) screening, taxonomy and morphology productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain S. F. 1993. J. Antibiot., 32: 427-436.
- VINCENT J. M. (1947) Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. Nature, 96, 596.
- YCHIA A. H., EL-HASSAN S. A., EL-BAHADLI A. H. (1985) Biological seed treatments to control Fusarium root rot of broad bean. Egyptian J. Phytopath., 14, 59-66.

EVALUATION *IN VITRO* DE CERTAINS MICRO-CHAMPIGNONS ISOLES LOCALEMENT POUR LEUR ANTAGONISME CONTRE LE PATHOGENE DE LA FLETRISSURE FUSARIALE (*FUSARIUM PALLIDOROSEUM* (COOK) SAAC.)

N. A. MUNSHI & G. H. HASSAN DAR*

Division of Sericulture, SK University of Agricultural Sciences & Technology of Kashmir
(SKUAST – K), Post Box 674, GPO Srinagar – 190 001, Cachemire, Inde.

Nous avons évalué in vitro les activités antagonistes de onze isolats indigènes appartenant à 9 espèces fongiques contre le pathogène de la flétrissure fusariale du mûrier Fusarium pallidoroseum avec les méthodes du tampon agar, de la culture double et du filtrat de culture. Avec la méthode du tampon agar, l'isolat " A " et l'isolat " M " de Trichoderma viride provoquent une inhibition maximum de la croissance du pathogène, suivis par Chaetomium indicum, l'isolat " T " de T. viride, Aspergillus flavus et Gliocladium roseum. Les quatre isolats de Trichoderma sont très antagonistes en double culture tandis que C. indicum s'avère antagoniste et Trichothecium roseum et Paecilomyces variotii modérément antagonistes. On observe l'inhibition maximum de la croissance mycéliale (68,4 %), de la sporulation (94,3 %) et de la germination des spores (95,5 %) de F. pallidoroseum avec le filtrat de culture de Trichothecium roseum suivi par C. indicum, Trichoderma viride et Trichoderma harzianum. Le mécanisme de l'antagonisme est soit l'hyper-parasitisme, la compétition ou l'antibiotisme.

INTRODUCTION

La flétrissure fusariale (*Fusarium pallidoroseum* (Cook) Sacc.), l'une des principales maladies dévastatrices du mûrier, est présente à la fois dans les régions tropicale et tempérée du globe. La maladie est répandue dans toutes les mûraies de la vallée du Cachemire pendant la saison de croissance sur tous les types de plantation. Les variétés exotiques et indigènes disponibles dans la Banque Génétique de la Division Séricicole SKUAST-K, à Mirgund sont sujettes à cette maladie et présentent des degrés de tolérance / de sensibilité variés (Munshi, 1998). La maladie entraîne la flétrissure des feuilles et des petites branches et également le dépérissement, la rouille basale, et la rouille de taille. La flétrissure affecte la qualité et la quantité des feuilles. On a rapporté que de nombreux fongicides sont efficaces pour combattre la maladie (Govindaiah et coll., 1990 ; Mandal, 1993 ; Munshi, 1998), cependant les cultivateurs semblent peu enclins à les utiliser principalement en raison des contraintes économiques et de l'appréhension de la toxicité résiduelle pour le ver à soie (*Bombyx mori* L.). Cela a poussé les chercheurs à se pencher sur l'utilisation de méthodes non nuisibles à l'environnement pour lutter contre la maladie. On considère que la lutte biologique contre les maladies des plantes est une alternative potentielle et viable à la lutte chimique (Fokkema, 1993 ; Singh et Faull, 1993). On a rapporté que de nombreux champignons de la rhizosphère sont antagonistes pour de nombreux champignons pathogènes (Pandey et Upadhyay, 2000 ; Sharma et Sharma, 2001) mais la nature et

* Division of Plant Pathology, SKUAST-K, Shalimar, Srinagar – 191 121, Cachemire, Inde.

l'amplitude de leur antagonisme varient. On considère en général que les isolats locaux, s'il y en a, sont mieux adaptés et plus compétitifs. Cette étude présente l'efficacité biologique de divers isolats indigènes variés contre le pathogène de la flétrissure fusariale du mûrier (*F. pallidoroseum*) dans des conditions *in vitro*.

MATERIELS ET METHODES

On isole le pathogène (*F. pallidoroseum*) sur des petites branches de mûrier sur un milieu d'extrait d'agar peptone-levure modifié (MPYEA) (Munshi, 1998). Les champignons évalués pour leur bioefficacité *in vitro* contre le pathogène sont l'isolat "A" de *Trichoderma viride* Pers. ex. Gray et *Chaetomium indicum* Corda isolé de la rizosphère du pommier (Munshi et coll., 2001), l'isolat "M" de *T. viride* et l'isolat "C" de *T. harzianum* Rifai (isolés respectivement sur du compost de *Pholiota* sp. et sur des champignons *Coprinus comatus* Fr.), l'isolat "T" de *T. viride* isolé de la rhizosphère de la tulipe, *Paecilomyces variotii* Bain, *Gliocladium roseum* Bain, *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bain, *Aspergillus flavus* et *A. terreus* isolés de la rhizosphère du mûrier et "*Trichothecium roseum*" isolé sur des petites branches de mûrier taillées et humidifiées. Les agents de lutte biologique ci-dessus sont isolés dans un milieu agar de dextrose de pomme de terre (PDA) par la technique de dilution sur plaque et on évalue leur efficacité *in vitro* par les méthodes du tampon agar, de la culture double et du filtrat de culture (Sivapratap et coll., 1996).

Avec la méthode du tampon agar, on verse la suspension de spores sur des boîtes de petri de 90 mm stérilisées contenant du milieu MPYEA. On réfrigère ensuite les plaques ensemencées à 4° C et on les utilise quand on a besoin. On place trois disques de 7 mm d'agents de lutte biologique, cultivés sur PDA, à distance égale sur des plaques ensemencées et on les incube à 28 ± 2° C pendant 4 jours. On considère la distance claire entre la périphérie du tampon agar et la croissance du pathogène comme la zone d'inhibition (Takahashi et coll., 1979) et on calcule sa surface en utilisant la formule $\pi(R^2 - r^2)$; où "R" est le rayon de la zone d'inhibition (Takahashi et coll., 1979) et "r" le rayon du tampon agar.

Dans la méthode de culture double, on place des tampons du pathogène testé de 7 mm de diamètre et des agents de lutte biologique à 80 mm l'un de l'autre sur les côtés opposés de boîtes de petri de 90 mm contenant environ 25 ml de milieu MPYEA. On transfère le pathogène sur le milieu 24 h avant de placer l'agent de lutte biologique. Pour chaque agent de lutte biologique, on maintient trois lots séparés et on les incube à 28 ± 2° C pendant 10 jours. D'après leur croissance et leur nature mycoparasitaire, on classe les agents de lutte biologique en six catégories (voir ci-dessous) d'après l'échelle en 5 catégories de Bell et coll., (1982) quelque peu modifiée.

- i) Très antagoniste : Croissance de l'agent biologique très rapide, recouvre la surface totale du milieu et recouvre complètement le pathogène.
- ii) Antagoniste : Croissance de l'agent biologique très rapide, recouvre au moins 2/3 de la surface du milieu mais sans montrer de nature mycoparasitaire.
- iii) Antagoniste modéré : Croissance lente de l'agent de lutte biologique mais il recouvre rapidement le pathogène une fois en contact.
- iv) Antagoniste lent : Croissance de l'agent biologique et du pathogène similaire en amplitude, aucun n'apparaît dominer l'autre.
- v) Antagoniste faible : Croissance rapide du pathogène, colonise au moins 2/3 de la surface du milieu et semble résister à l'empiétement par l'agent biologique.
- vi) Non-antagoniste : Croissance du pathogène très rapide, recouvre complètement l'agent biologique et recouvre toute la surface du milieu.

On étudie le mode de mycoparasitisme entre l'antagoniste et le pathogène grâce à des examens microscopiques visuels et périodiques.

On évalue le filtrat de culture de l'agent biologique contre le pathogène *in vitro* grâce à la technique d'empoisonnement de la nourriture (Schmitz, 1930). Les cultures des agents biologiques, cultivées sur un bouillon MPYEA dans une fiole Erlenmeyer à $28 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 15 jours, sont filtrées au travers d'un filtre papier Whatman no. 42 et le filtrat est soumis à une centrifugation répétée à 9000 tpm. On cultive *F. pallidoroseum* sur un milieu agar MPYEA additionné du filtrat de culture / métabolite de l'agent biologique (4 : 1 v / v). Le milieu sans filtrat de culture sert de témoin. On organise l'expérience selon une conception complètement aléatoire et on répète chaque traitement trois fois. On mesure la croissance du champignon le 8^{ème} jour.

On étudie l'effet du filtrat de culture sur la suppression des spores de *F. pallidoroseum* en prenant un disque mycéliel du pathogène de 4mm à différents endroits à partir du lot d'expériences citées plus haut. On le fait soigneusement macérer dans 5 ml d'eau distillée pour libérer les spores. On compte le nombre moyen de spores par champ microscopique ($\times 600$) à partir de 20 observations prises sur des lots traités et témoins. On étudie l'effet du filtrat de culture sur la germination des spores sur une lame matrice conservée dans des chambres humides. On calcule le pourcentage de production et de germination des spores selon la formule de Vincent (1947).

RESULTATS ET DISCUSSION

Tous les agents biologiques testés sauf *S. brevicaulis*, inhibent la croissance de *F. pallidoroseum* avec la méthode du tampon agar. Le filtrat de culture de ces organismes inhibe aussi la croissance du pathogène testé de manière significative et diminue sa production et la germination de ses spores (Tableau I). L'inhibition de la croissance mycéliale, la production et la germination de spores grâce au filtrat de culture des agents de lutte biologique varie respectivement de 11,5 à 68,5 %, de 12,3 à 94,3 % et de 14,5 à 95,5 %. Les quatre isolats de *Trichoderma* testés présentent de fortes propriétés antagonistes contre le pathogène avec la culture double, ils recouvrent toute la surface du milieu et recouvrent complètement le pathogène en quatre jours. L'interaction entre les isolats de *T. viride*, de *T. harzianum* et *F. pallidoroseum* révèle que les antagonistes s'enroulent sur la colonie du pathogène, à partir du côté supérieur, entraînent la lyse ainsi que la pression des métabolites de l'antagoniste sous la colonie pathogène. L'isolat "A" de *T. viride* présente l'inhibition maximum de la croissance du pathogène ($73,4 \text{ cm}^2$) avec la méthode du tampon agar suivi par *C. indicum* ($46,6 \text{ cm}^2$). On a rapporté que dans de nombreux cas les espèces de *Trichoderma* présentent une compétition, un hyperparasitisme et un antibiotisme (Blakeman et Fokkema, 1982 ; Ali-Haimoud et coll., 1995). On a utilisé efficacement *T. viride* contre de nombreuses espèces de *Fusarium* et de *Dematophora necatrix* chez de nombreuses cultures comme la tomate, les haricots, le mûrier, la pomme, le pois etc.. (Ychia et coll., 1985 ; Dercole et Nipoti, 1986 ; Latha et coll., 1993 ; Pandey et Upadhyay, 2000 ; Sharma et Sharma 2001). La forte action antagoniste dans le cas présent est attribuée à la production de métabolites antimicrobiens ainsi qu'à l'hyperparasitisme.

C. indicum s'avère antagoniste avec la culture double puisqu'il recouvre deux tiers de la surface du milieu et restreint la croissance du pathogène sans aucune action mycoparasitaire. Il ne lyse pas le pathogène parce qu'après son re-isolément de la surface colonisée, il donne une colonie viable de *F. pallidoroseum*. Le filtrat de culture de *C. indicum* entraîne 46,5 % d'inhibition de la croissance du pathogène et respectivement 77,1 et 83,7 % de réduction de la sporulation et de la germination des spores. L'inhibition observée dans cette étude corrobore les études de Chang et Komedalil (1972) dans lesquelles ils ont observé que le filtrat de culture des espèces sœurs *C. globosum* et *C. bostrychodes* présente des propriétés antagonistes contre *Fusarium*.

Cependant, *Trichothecium roseum* produit une zone d'inhibition comparativement moins importante avec le tampon agar mais le filtrat de culture produit une inhibition maximum de 68,5 % de la croissance du mycelium du pathogène et supprime la production et la germination de spores de *F. pallidoroseum* de respectivement 94,3 et 95,5 %. Cependant, avec la culture double, *T. roseum* et *P. variotii* s'avèrent être des antagonistes modérés et une fois en contact lysent rapidement le

pathogène comme le montrent les examens microscopiques visuels. On a déjà rapporté que *T. roseum* colonise *Sclerotinia sclerotiorum* (Rai et Saxena, 1975) et que son filtrat contient de la trichothécine, une mycotoxine antifongique (Maksimova et Grushina, 1974).

Dans cette étude, *C. indicum*, *T. harzianum*, *P. variotii*, *A. flavus* et tous les isolats de *Trichoderma* testés entraînent 30 % de diminution de la croissance mycéliale du pathogène, 40 % de diminution de la production de spores et 50 % de diminution de la germination des spores. *G. roseum*, *P. variotii*, *T. harzianum* et *A. flavus* ou leur filtrats de culture sont efficaces pour inhiber la croissance du pathogène mais l'amplitude de l'inhibition est moins importante qu'avec *T. viride*, *C. indicum* ou *T. roseum*.

Les résultats de cette étude révèlent que *T. viride*, *C. indicum*, *T. roseum*, *P. variotii* et *G. roseum* possèdent des propriétés antagonistes contre *F. pallidroseum* grâce à leur hyperparasitisme ou à leur compétition ou à leur antibiotisme et ils pourraient être utilisés comme agents de lutte biologique pour lutter contre la maladie. Cependant, il faudrait évaluer leur efficacité sur le terrain et procéder à leur évaluation biologique chez le ver à soie avant d'adopter de telles mesures non nuisibles à l'environnement.

EFFECT OF ROW ARRANGEMENTS ON YIELD AND MONETARY BENEFITS IN MULBERRY (*MORUS INDICA*) MAIZE (*ZEa MAYS*) AND MULBERRY - FINGER MILLET (*ELEUSINE CORACANA*) INTERCROPPING

B. R. DAYAKAR YADAV* & T. D. NAGENDRA KUMAR

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

*Field experiment was conducted to investigate the effect of intercropping 'Kanva 2' mulberry (*Morus indica* L.) maize (*Zea mays* L.) and mulberry - finger millet (*Eleusine coracana* L.) on yields of component crops, total land productivity and monetary benefits under different row arrangements. Total yield was consistently greater in row intercropping than in mono-cropping mainly due to increase in plant population between mulberry plants rows. Monetary benefits were consistently higher in intercropping mulberry - maize and mulberry - finger millet than with sole mulberry crop. Intercropping mulberry - maize gave up to 43% and mulberry - finger millet gave up to 31% higher overall yield advantage over sole mulberry crop alone. For the optimum productivity the optimum plant population in 1: 2 row arrangements was found to be ideal over other row arrangements. Therefore, for the economic viability and yield, intercropping of maize or finger millet as subsidiary crop with mulberry as main crop in 1:2 row arrangements is found to be the best combination.*

Keywords: Intercropping, mulberry + maize, mulberry + finger millet, productivity, monetary benefit, row arrangement effects.

INTRODUCTION

Intercropping of legumes and cereals are common in South-east Asia for both food and feed, in Indian agriculture mixed cropping is a common practice. The legumes or non legume intercrops are grown with the double aim i.e., to maintain soil fertility without sacrificing the cash and subsistence opportunities provided by non-legumes (Jodha 1991).

There are many reports on the beneficial effects of grain legumes such as soy bean by virtue of their ability to fix atmospheric nitrogen and leave soil enriched (Singh & Kashyap 1983; Saxena & Chandel 1984; Chowdary & Rosario 1993). Maize is a unique crop distributed in temperate, tropical and sub- tropical environment north and south of the equator, growing from sea level to over 3000 m ASL. Its adaptation to diverse micro- environmental condition is tremendous. In India, it is grown on 6.5 million ha; the grain is used as human food and animal feed, forage, oil, starch and in alcohol industry. The maize productivity is 1,750 kg ha⁻¹. Among the cereals, finger millet (*Eleusine coracana* L.) is predominantly a rain fed crop, grown in diverse soils, climate and lavish environments. Though it has low value status, adaptation to poor habitats, poor resources base, its production and consumption by the poorer sections of society has helped the farmer to meet his food requirement. It is cultivated in 2 million ha in India and productivity is 1350 kg ha⁻¹ of grain; one of its important features is that the dry grain contains 344 mg 100g⁻¹ of Calcium, which is the highest

* Central Silk Board, Bangalore 560 068.

among all food grains (Seetharam 2001). There is however a dearth for precise information about the level of benefit derived by mulberry and cereal/grain from each other in terms of yield component, monetary value etc. In the present study, an effort was made to understand the effects of cereal intercrops in the normal mulberry field crop by adopting 1, 2 or 3 rows of a cereal/fodder crop in-between mulberry rows.

MATERIALS AND METHODS

A field experiment was conducted during the autumn and spring seasons at the KSSRD Institute farm, situated at 13.35 N and 76.50 E, at 914 m ASL. Recommended package of practices recommended for the zone was adopted as given under each experiment, to raise the main crop 'Kanva-2' mulberry (*Morus indica* L.) and the subsidiary crops like variety 'Deccan-103' (*Zea mays* L.) and variety 'Indaf-8' (*Eleusine coracana* L.).

The experiments were laid out in randomized complete block design and replicated 4 times. Mulberry plants were spaced at 120 cm row - to - row and 60 cm plant - to - plant, with 20 mt organic manure and NPK of 300:150:150 Kg ha⁻¹ in five split doses for the main plot. Various row combinations formed the subplots, and the gross size of each subplot was 5.4 m × 4.8 m.

Each experiment contained five treatments i.e. (T-1) sole main crop (T-2) sole subsidiary crop, (T-3) main and subsidiary crop in 1:1 row, (T-4) main and subsidiary crop in 1:2 rows, and (T-5) main crop and subsidiary crop in 1:3 rows, subsidiary crop was planted between main crop rows. For assessing the yield advantage of different intercrop density Income Equivalent Ratio [IER] i.e., the conversion of LER into income terms was used. Similar experiment was laid out for the mulberry and finger millet intercrop also. Analysis of variance was used to assess treatment effects. Data for the sole crops of mulberry, maize and finger millet plots were analyzed.

Experiment – I:

In mulberry – maize, the maize crop was sown during autumn [July – Sept], the sole maize crop was spaced at 30 cm between rows and 60 cm between plants. Before sowing, seed treatment was given with 4 Kg ZnSO₄, Organic manure at 4 mt and NPK fertilizer at 60:30:15 Kg ha⁻¹ band applied to each plot at 3 Weeks After Sowing [WAS] of the recommended fertilizer dose 40 Kg N was applied as top dressing at 8 WAS. In 1:1 row arrangement each subplot contained 36 maize plants arranged in a row between mulberry plants. In 1:2 row arrangements the number of plants was doubled, i.e., 72 maize plants in 2 rows between mulberry plants. In 1:3 row arrangements, 108 maize plants were planted in 3 rows between mulberry rows. Maize was harvested at 15 WAS maize cobs was sun dried for four days, grain separated and total dry weight calculated. While the maize shoot fodder was weighed for fresh and dry weight. During the same period of maize crop, two mulberry leaf harvests were done at 9 and 13 Weeks After Pruning [WAPr]. The total yield from both the harvests were pooled and calculated as per the standard procedure given by Willey & Osira 1972.

Experiment – II:

In mulberry - finger millet the crop was raised during spring season [Oct – Jan] the sole finger millet crop was spaced at 23 cm between rows and 10 cm between plants. Organic manure of 7.5 mt NPK at 100: 50: 50 Kg ha⁻¹ was band applied to each plot at 3 Weeks After Sowing (WAS). In 1:1 row arrangement each subplot contained 192 finger millet plants arranged in-between mulberry rows. In 1:2 rows arrangement, the number of plants was doubled i.e., 384 finger millet plants in two rows between mulberry rows. In 1:3 rows arrangements and 576 finger millet plants were planted in three rows between mulberry rows. Finger millet was harvested at 12 WAS millet heads was collected, sun dried for 5 days, grains separated and total dry seed and fodder weight collected. During the same period of millet crop, two mulberry leaf harvests were done at 9 and 13 WAPr. The total yield from both crop harvests were pooled and calculated as per standard procedure (Willey & Osira 1972).

RESULTS AND DISCUSSION

Crop yield:

Experiment-1:

In mulberry maize intercrop the yield of mulberry leaf decreased due to row intercropping, optimum yield was in 1:2 row arrangements, however the yield decreased considerably in 1:3 row arrangements. Maize seed and fodder production showed an increase with increase in population density, i.e., 498 kg ha⁻¹ seeds and 2,180 kg ha⁻¹ fodder in 1-row planting; 1,092 kg ha⁻¹ and 4,275 kg ha⁻¹ in 2-rows planting; and 1,412 kg ha⁻¹ and 4,988 kg ha⁻¹ in 3- rows of maize planting density compared with sole maize crop producing 1,752 kg ha⁻¹ seed and 9,452 kg ha⁻¹ fodder (Table I). The maize seed yield increased with increase in row-planting density. On 3-row maize intercropping the seed production was 1,412 kg ha⁻¹ compared with 1,752 kg ha⁻¹ under sole maize crop.

Table I. Yields of crop and net income of Mulberry (M) and Maize (Mz) in intercropping.

Tableau I. Rendements des cultures et revenu net du Mûrier (M) et du Maïs (Mz) dans la culture alternée.

Yields / Rendements	Mono-crop Culture unique		Intercrop Interculture		
	M	Mz	M + Mz	M + Mz	M + Mz
			(1:1)	(1:2)	(1:3)
Net income: (Rs/ha) Revenu net	16,220	8,160	17,493	19,619	19,711
Yield (kg/ha) / Rendement (kg / ha)					
i). Mulberry / Mûrier	12,976	—	12,300	12,143	11,349
ii). Maize / Maïs					
a) Seeds / Graines	—	1,752	498	2,180	1,412
b) Fodder / Fourrage	—	9,452	2,180	4,275	4,988

F-ratio / Ratio-F = 43.02** (** = P < 0.01), (* = P < 0.05); Yield is based on the actual cost / Le rendement est basé sur le coût réel; Mulberry leaf / Feuille de mûrier @ Rs 1.25/kg; Finger millet seeds / Graines de millet @ Rs 7.00/kg; Fodder / Fourrage @ Rs. 0.40 /kg.

Conversion rate / Taux de conversion : US \$ = Rs. 46 Euro = Rs. 51.

Experiment II:

In mulberry - finger millet too the mulberry yield was affected under row intercropping, due to increase in planting density. However, the decrease was marginal under different row arrangements. Proportionately the finger millet seed and fodder production varied depending on the population density, 119 kg ha⁻¹ seed and 550 kg ha⁻¹ fodder in 1-row; 532 kg ha⁻¹ and 1,534 kg ha⁻¹ in 2-rows; and 593 kg ha⁻¹ and 2,257 kg ha⁻¹ in 3-rows planting density, compared with 1453 kg ha⁻¹ seed and 2585 kg ha⁻¹ fodder under sole finger millet crop (Table II)

The yield advantage in intercropping is attributed to better utilization of one or more growth resources by the component crops due to their complementary effect (Willey, 1979). Although total productivity of an intercropping system can be greater, productivity of at least 1 or even both component crops is usually less than that of respective sole crops in intercropping (Natarajan and Willey 1980, Rees 1986), similar trend was observed in the present study.

Table II. Yields of crop and net income of Mulberry (M) and Finger Millet (FM) in intercropping.**Tableau II. Rendements des cultures et revenu net du Mûrier (M) et du Millet (M) dans la culture alternée.**

Yields <i>Rendements</i>	Mono – crop <i>Culture unique</i>		Intercrop <i>Interculture</i>		
	M	FM	M + FM (1:1)	M + FM (1:2)	M + FM (1:3)
Net income: (Rs/Ha) / <i>Revenu net</i>	10,779	11,205	11,773	15,077	15,526
Yield (kg/ha) / <i>Rendement (kg / ha)</i>					
i). Mulberry / <i>Mûrier</i>	8,623	—	8,576	8,591	8,378
ii). Finger Millet	—	—	—	—	—
a. Seeds / <i>Graines</i>	—	1,453	119	532	593
b. Fodder / <i>Fourrage</i>	—	2,585	550	1,534	2,257

F-ratio = 121.11**; (** = $P < 0.01$); (* = $P < 0.05$);Yield is based on the actual cost / *Le rendement se base sur le coût réel*; Mulberry leaf / *Feuille de mûrier* @ Rs 1.25/kg; Finger millet seeds / *Graines de millet* @ Rs 7.00/kg; Fodder / *Fourrage* @ Rs. 0.40 /kg.Conversion rate / *Taux de conversion*: US \$ = Rs. 46 Euro = Rs. 51.**Net income:**

The net income calculated under intercropping was higher than in pure stand of either mulberry or cercal crop. In Mulberry – Maize intercropping the maximum net income of Rs 19,711 ha⁻¹ from 1: 3 rows ratio was followed by Rs 19,619 ha⁻¹ in 1:2 rows and Rs 17,493 ha⁻¹ in 1:1 row; all being statistically significant over the sole crops. The plots with sole crop of mulberry yielded a net income of Rs 16,220 ha⁻¹ from 2 harvests and maize crop alone of Rs 8,160 ha⁻¹ within a cropping duration of 100 days. The economic viability of sole cropping vis-à-vis intercropping with maize under different planting densities shows (Table I) that intercropping 1:2 mulberry- maize is more ideal in view of the other advantages like optimum land utilization and fodder output.

In mulberry - finger millet intercrop maximum net income was Rs 15,526 ha⁻¹ in 1:3 row plantation, followed by 1:2 (Rs. 15,077 ha⁻¹), which is significant over the sole mono crop. Though 1:1 intercrop yielded Rs 11,773 ha⁻¹ the net income generated was marginal over the sole crop. The net income under mono cropping was Rs. 10,779 ha⁻¹ from 2 mulberry leaf harvests and Rs 11,205 ha⁻¹ from finger millet crop within the cropping duration of 90 days. Although there was economic advantage in adopting intercropping system, maximum benefit was derived from 1:2 row arrangement from mulberry + maize and in mulberry + finger millet intercrop and also for optimum utilization of land and water. Total yield of each species was highest when grown in pure stand, which marginally decreased when additional row or rows of subsidiary crop when introduced between the main crops.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Dr. Challaiah, Technical Officer, University of Agricultural Sciences, Bangalore, for guidance and suggestions.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1987). Agronomic Terminology, Indian Society of Agronomy, Indian Agriculture Research Institute [IARI], New Delhi. 213 pp.
- ANONYMOUS (1988). Package of Practices for High Yielding Crop, University of Agricultural Sciences, Bangalore. 259 pp.
- CHOWDARY M. K. & Rosario, E.L. (1993). Nitrogen utilization efficiency as affected by component population in Maize - Mung bean intercropping. Trop. Agric. (Trin) 70(3);199 pp.
- JODHA N. S. (1991). Intercropping in traditional farming system. In: Willey R.W [Ed] Proceedings of the International Workshop on intercropping, India, 10-13 Jan 1979. ICRISAT, India. 282 - 291.
- NATARAJAN M & WILLEY R W. (1980). Sorghum pigeon pea intercropping and their effects of plant population densities - I. Growth and yield. Journal of Agricultural Science, Cambridge, 95: 51-8.
- REES D. J. (1986). Crop growth, development and yield in semi-arid condition in Botswana. II. The effects of intercropping *Sorghum bicolor* with *Vigna unguiculata* Experimental Agriculture 22: 169-77.
- SAXENA S. C & CHANDEL A S. (1984). Effect of maize intercropping in soybean. World Soybean Research Conference III. Field Crop Abstracts 61: 306.
- SEETHARAM A (2001). Coarse grain food for farmers of rainfed tribal and hilly areas. Indian Farming 50(10): 36 - 39.
- SINGH J. N. & KASHYAP S P. (1983). Contribution of symbiotically fixed N-2 by soybean and other grain legumes to the associated and succeeding crop. World Soybean Research Conference - II. Field Crop Abstracts 34: 9482.
- WILLEY R. W & OSIRA D.S.O (1972). Studies on the mixture of Maize and beans (*Phaseolus vulgaris*) with particular reference to plant population. J. Agric. Sci (Camb).79:519 - 529.
- WILLEY R. W. (1979). Intercropping - its importance and research needs. I. Competition and yield advantages. In : Field Crop Abstracts 32: 1-10.

EFFET DES DISPOSITIONS EN RANGEES SUR LE RENDEMENT ET LES BENEFICES MONETAIRES DANS LES INTER-CULTURES MURIER (*MORUS INDICA*) - MAÏS (*ZEA MAYS*) ET MURIER - MILLET (*ELEUSINE CORACANA*)

B. R. DAYAKAR YADAV* & T. D. NAGENDRA KUMAR

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

*On a réalisé une expérience sur le terrain pour étudier l'effet de la culture mixte murier (*Morus indica* L.) " Kanza2 " - maïs (*Zea mays* L.) et murier-millet (*Eleusine coracana* L) sur le rendement des composantes des cultures, sur la productivité totale de la terre et sur les bénéfices monétaires en fonction des différentes dispositions en rangées. Le rendement total est considérablement plus élevé avec l'interculture en rangées qu'avec la mono-culture principalement en raison de l'augmentation de la population de plantes entre les rangées des plants de murier. Les bénéfices monétaires sont considérablement plus élevés avec la culture mixte murier-maïs et murier-millet qu'avec la culture unique du murier. La culture alternée murier-maïs donne un rendement global de 43 % plus élevé et celle murier-millet de 31 % plus élevé que la culture du murier seule. Pour la productivité optimum, la population optimum de plantes dans des dispositions en 1 rangée pour 2 s'avère idéale par rapport aux autres dispositions en rangées. La culture alternée avec le maïs ou le millet comme culture subsidiaire et le murier comme culture principale dans des dispositions en 1 rangée sur 2 s'avère la meilleure combinaison pour la viabilité économique et le rendement.*

INTRODUCTION

La culture alternée de légumineuses et de céréales est courante dans le sud-est de l'Asie à la fois pour l'alimentation et le fourrage et dans l'agriculture indienne la culture mélangée est une pratique courante. On pratique la culture alternée avec des légumineuses ou non-légumineuses à double escient pour maintenir la fertilité du sol sans toutefois sacrifier aux opportunités monétaires et de subsistance apportées par les non-légumineuses (Jodha, 1991).

Il existe de nombreux rapports sur les effets bénéfiques des céréales légumineuses telles que le soja en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et à maintenir la richesse du sol (Singh & Kashyap 1983 ; Saxena & Chandel, 1984 ; Chowdary & Rosario, 1993). Le maïs est l'unique culture distribuée dans l'environnement tempéré, tropical et sub-tropical au Nord et au sud de l'équateur, poussant au niveau de la mer jusqu'à 3 000 m d'altitude. Son adaptation à des conditions micro-environnementales variées est exceptionnelle. En Inde, il est cultivé sur 6,5 millions d'hectares ; le grain est utilisé pour la nourriture humaine et pour l'alimentation animale, pour produire du fourrage, de l'huile, de l'amidon et dans l'industrie de l'alcool. La productivité du maïs est de 1 750 kg ha⁻¹. Parmi les céréales, le millet (*Eleusine coracana* L) est surtout une culture des zones non irriguées, cultivée dans des environnements de sols et de climat variés et nombreux. Bien qu'il ait une faible valeur, il s'adapte à de mauvais habitats, est adapté aux personnes à faibles revenus, est produit et consommé par les couches les plus pauvres de la société et a permis aux fermiers de

* Central Silk Board, Bangalore 560 068.

répondre à leurs besoins alimentaires. Il est cultivé sur 2 millions d'hectares en Inde et sa productivité est de $1\,350\text{ kg ha}^{-1}$ de grains ; l'un de ses principaux caractères est que le grain sec contient $344\text{ mg } 100\text{ g}^{-1}$ de calcium, ce qui représente le niveau le plus élevé chez les céréales alimentaires (Seetharam, 2001). Il existe cependant un manque d'informations précises sur le niveau de bénéfices que l'on peut dériver entre le mûrier et les céréales / les graines, en termes de composantes de rendement, de valeur monétaire etc. Dans cette étude, nous avons fait un effort pour comprendre les effets des cultures mixtes avec les céréales dans la culture normale du mûrier sur le terrain en adoptant 1, 2 ou 3 rangées de cultures céréalières / de fourrage entre les rangs de mûrier.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé une expérience sur le terrain à l'automne et au printemps dans la mûraie de l'Institut du KSSRD située à $13,35\text{ N}$ et $76,50\text{ E}$ à 914 m au-dessus du niveau de la mer. On utilise l'ensemble des pratiques recommandées pour la zone pour chaque expérience, pour cultiver la culture principale du mûrier " Kanva-2 " (*Morus indica* L.) et les cultures subsidiaires telles que la variété " Deccan-103 " (*Zea mays* L.) et la variété " Indaf-8 " (*Eleusine coracana* L.).

On conçoit les expériences selon une conception complètement aléatoire et on la répète 4 fois. Les rangées de plants de mûrier sont espacées de 120 cm et les plants de 60 cm , avec 20 t de fumure et du NPK à raison de $300 : 150 : 150\text{ Kg ha}^{-1}$ en cinq doses séparées pour la parcelle principale. Les diverses combinaisons de rangées forment les sous-parcelles et la taille de chaque sous-parcelle est de $5,4\text{ m} \times 4,8\text{ m}$.

Chaque expérience comprend cinq traitements c'est à dire (T-1) une culture principale unique, (T2) une culture subsidiaire unique, (T-3) la culture principale et subsidiaire en une rangée pour une, (T-4) la culture principale et subsidiaire en 1 pour 2 rangées et (T-5) la culture principale et la culture subsidiaire en 1 pour 3 rangées, la culture subsidiaire étant plantée entre les rangées de la culture principale. Pour évaluer l'avantage de rendement avec les différentes densités des cultures alternées, on utilise le Ratio Equivalent de Revenu IER, c'est à dire la conversion du LER en termes de revenus. On conçoit une expérience similaire pour la culture alternée du mûrier et du millet. On utilise l'analyse de variance pour évaluer les effets du traitement. On analyse les données pour les cultures uniques dans les parcelles de mûrier, de maïs et de millet.

Expérience – I :

Avec le mûrier – maïs, on sème la culture de maïs en automne (juillet – sept), on espace les rangées de culture unique de maïs tous les 30 cm et les plants tous les 60 cm . Avant les semailles, on traite les graines avec 4 Kg ZnSo_4 , 4 tonnes de fumure biologique, et des engrais NPK à $60 : 30 : 15\text{ Kg ha}^{-1}$ appliqués dans chaque parcelle 3 semaines après les semailles [WAS] et sur la dose d'engrais recommandée on applique 40 Kg N en couche supérieure 8 semaines après les semailles. Dans la disposition en 1 rangée pour 1 chaque sous-parcelle contient 36 plants de maïs disposés en une rangée entre les plants de mûrier. Dans les dispositions en 1 pour 2 rangées, on double le nombre de plants, c'est à dire 72 plants de mûrier en 2 rangées entre les plants de mûrier. Dans les dispositions en 1 pour 3 rangées, on plante 108 plants de maïs en 3 rangées entre les rangées de mûrier. On récolte le maïs 15 semaines après les semailles, on sèche les épis de maïs au soleil pendant quatre jours, on sépare les grains et on calcule le poids sec total.

Entre-temps, on pèse le poids du fourrage obtenu à partir des pousses de maïs pour en déduire le poids frais et sec. Pendant la même période de culture du maïs, on procède à deux récoltes des feuilles de mûrier 9 et 13 semaines après la taille [WAPr]. Le rendement total à partir des deux récoltes est regroupé et calculé d'après la procédure habituelle de Willey & Osira 1972.

Expérience-II :

Avec le mûrier – millet on procède à la culture au printemps (oct-jan), on espace les rangées pour la culture unique de millet de 23 cm et les plants de 10 cm. On applique 7,5 tonnes de fumure organique du NPK à raison de 100 : 50 : 50 Kg ha⁻¹ dans chaque parcelle 3 semaines après les semailles (WAS). Dans la disposition en 1 rangée pour 1 chaque sous-parcelle contient 192 plants de millet disposés entre les rangées de mûrier. Dans la disposition en 1 sur 2, on double le nombre de plants, c'est à dire 384 plants de millet en deux rangées entre les rangées de mûrier. Dans les dispositions en 1 pour 3 rangées, on plante 576 plants de millet en trois rangées entre les rangées de mûrier. On récolte le millet 12 semaines après les semailles et on récolte les têtes de millet, on les sèche au soleil pendant 5 jours, on sépare les grains et on recueille le poids sec total des graines et du fourrage. Pendant la même période de culture du millet, on procède à deux récoltes des feuilles de mûrier 9 et 13 semaines après la taille. On regroupe le rendement total des récoltes des deux cultures et on le calcule d'après la procédure habituelle (Willey & Osira, 1972).

RESULTATS ET DISCUSSION**Rendement des cultures :****Expérience I :**

Dans la culture alternée mûrier - maïs, le rendement en feuilles de mûrier baisse en raison de la culture alternée dans les rangées, on obtient le rendement optimum avec les dispositions en 1 : 2 rangées, cependant le rendement baisse considérablement avec les dispositions en 1 : 3 rangées. Les grains de maïs et la production de fourrage augmentent avec l'augmentation de la densité de la population, c'est à dire 498 kg de graines ha⁻¹ et 2 180 kg de fourrage ha⁻¹ dans une plantation à une rangée ; 1 092 kg ha⁻¹ et 4 275 kg ha⁻¹ dans la plantation en 2 rangées ; et 1 412 kg ha⁻¹ et 4 988 kg ha⁻¹ avec une densité de plantation de maïs en 3 rangées par comparaison à la culture unique de maïs produisant 1 752 kg de graines ha⁻¹ et 9 452 kg de fourrage ha⁻¹ (Tableau I). Le rendement en graines de maïs augmente avec l'augmentation de la densité de plantation des rangées. Avec la culture alternée de maïs sur 3 rangées, la production de graines est de 1 412 kg ha⁻¹ par comparaison à 1752 kg ha⁻¹ avec la culture unique du maïs.

Expérience II :

Avec le mûrier – millet aussi, le rendement en mûrier est affecté en fonction de la culture alternée en rangées, avec l'augmentation de la densité de plantation. Cependant, la baisse est marginale avec les différentes dispositions en rangées. Proportionnellement, les graines de millet et la production de fourrage varient selon la densité de population, 119 kg ha⁻¹ de graines et 550 kg ha⁻¹ de fourrage avec une rangée, 532 kg ha⁻¹ et 1 534 kg ha⁻¹ avec deux rangées et 593 kg ha⁻¹ et 2 257 kg ha⁻¹ selon une densité de plantation en 3 rangées, par comparaison à 1 453 kg ha⁻¹ de graines et 2 585 kg ha⁻¹ de fourrage avec la culture unique de millet (Tableau II).

L'avantage de rendement avec la culture alternée est attribué à la meilleure utilisation d'une ou de plusieurs ressources de croissance par les composantes des cultures en raison de leur effet complémentaire (Willey, 1979). Bien que la productivité totale du système de culture alternée puisse être plus élevée, avec la culture alternée la productivité d'une ou même des deux composantes de cultures est habituellement inférieure à celle des deux cultures uniques respectives (Natarajan et Willey 1980, Rees, 1986) et on observe une tendance similaire dans cette étude.

Revenu net :

Le revenu net calculé avec la culture alternée est plus élevé qu'en culture pure avec le mûrier ou les cultures céréalières. Dans la culture alternée mûrier – maïs le revenu net maximum de 19 711 Rs ha⁻¹ avec un ratio de 1 : 3 rangées est suivi par 19 619 Rs ha⁻¹ avec 1 : 2 rangées et par 17 493 Rs. ha⁻¹ dans le cadre d'une disposition en 1 rangée sur 1 ; et ils sont tous significatifs sur le plan

statistique par rapport aux cultures uniques. Les parcelles avec une culture unique de mûrier donnent un revenu net de 16 220 Rs ha⁻¹ à partir de deux récoltes et la culture de maïs seule donne un revenu de 8 160 Rs ha⁻¹ pendant une durée de culture de 100 jours. La viabilité économique de la culture unique par rapport à la culture alternée avec le maïs avec différentes densités de plantation (Tableau I) montre que la culture alternée 1 : 2 de mûrier-maïs est la meilleure pour d'autres raisons comme l'utilisation optimum de la terre et la production de fourrage.

Avec la culture alternée mûrier – millet, le revenu net maximum est de 15 526 Rs ha⁻¹ avec une plantation 1 : 3, suivi par 1 : 2 (15 077 Rs. ha⁻¹), ce qui est significatif par rapport à la culture unique. Bien que l'interculture 1 : 1 donne 11 773 Rs ha⁻¹, le revenu net généré est marginal par rapport à la culture unique. Le revenu net avec la mono-culture est de 10 779 Rs. ha⁻¹ à partir de deux récoltes de feuilles de mûrier et de 11 205 Rs ha⁻¹ avec la culture de millet sur une culture de 90 jours. Bien qu'il y ait un avantage économique à adopter le système de culture alternée, on obtient le bénéfice maximum avec une disposition en 1 : 2 rangées avec la culture alternée mûrier + maïs et avec le mûrier + millet et elle permet une utilisation optimum de la terre et de l'eau. Le rendement total pour chaque espèce est plus élevé quand on la cultive en récolte pure sur pied et il baisse de manière marginale quand on introduit une ou plusieurs rangées supplémentaires entre les cultures principales.

A STUDY ON THE SUITABILITY OF MICRO IRRIGATION SYSTEMS ON MULBERRY LEAF YIELD AND SILKWORM REARING

N. SIDDALINGASWAMY, U. D. BONGALE, S. N. NARAYANAGOWDA &
R. M. SHIVAPRAKASH

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

A field experiment was conducted with furrow, drip and chapin tape methods of irrigation at three levels namely 0.3, 0.6 and 0.9 Epan (ie. Cumulative Pan Evaporation(CPE)/Pan Evaporation) in two plant spacings (60 × 60 cm and 120 × 60 cm) of M5 mulberry variety during 1997-2000 with a total of ten harvests taken during the period. This covered four experimental harvests including two for the bioassay during non-rainy period. Pooled data of four harvests of two years for non - rainy period recorded highest leaf yield in 60 × 60 cm spacing (10,090 kg/ha/crop), drip irrigation (9,564 kg/ha/crop) and 0.9 CPE/Epan (10,278 kg/ha/crop) among the main effects studied recording highly significant treatment differences in plant spacings and levels of irrigation. Among the treatment interactions, highest leaf yield in the treatment combination of 60 × 60 cm + drip method + 0.9 CPE/Epan (11,991 kg/ha/crop). Pooled data of the two bioassay trials showed that highest values of ERR (effective rate of rearing) was recorded with 60 × 60 cm plant spacing (98.08 %), drip irrigation (98.45%) and 0.9 CPE/Epan (98.53 %) whereas highest cocoon-shell ratio was recorded in 60 × 60 cm spacing (18.8 %), and 0.9 CPE/Epan (18.87 %) and highest single cocoon weight was recorded in drip irrigation (1.98g). The study revealed that the micro irrigation systems performed better with 30-60 % saving of irrigation water associated with yield improvements compared to furrow method.

Keywords: Cumulative Pan Evaporation (CPE) / Pan Evaporation(Epan), irrigation methods, mulberry, rearing, spacing.

INTRODUCTION

Irrigated agriculture under properly managed conditions can increase the productivity considerably. Rapid increase in mulberry silk production in India during the last century could be achieved through irrigation. But the utilizable water resources available in India, under the present irrigation technology, can irrigate only a part of the cultivable lands which can be increased with appropriate water management technologies such as micro irrigation. Drip or trickle irrigation is important among the available technological interventions facilitating economisation of water sources (Bongale and Siddalingaswamy 2003). A few studies carried out with mulberry have revealed that it was possible to save up to 45-60 percent of water adopting drip irrigation to mulberry compared to furrow irrigation (Muralidhar, 1993; Saratchandra *et al.*, 1992; Shankar *et al.*, 1993) indicating the scope for undertaking comprehensive studies on the subject. Present study was hence undertaken.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted with M-5 mulberry variety at the campus of this Institute (KSSRDI) for 3 years (1997-2000) of which the first year was considered as establishment year. Out of a total of ten harvests during two subsequent years (1998-2000) four experimental harvests (two each for the two years) during the non rainy period with bioassay for 2 crops during January 2000 to May 2000 were taken. The soil was red sandy clay loam at a pH of 7.55 and EC of 0.47 dS/m. The field capacity at 0 to 90 cm was 24.2 % and permanent wilting point was 14.5 % (pressure plate membrane apparatus method) and bulk density was 1.47 g/cc (core sampler method). The experimental design was split-split plot with 18 treatment combinations and three replications each. The treatment details are as follows.

- a) Main treatment (2) : Plant spacings : S₁ (60 x 60 cm); S₂ (120 x 60 cm);
 - b) Sub-treatments (3): Methods of irrigation :
I₁ (Furrow method); I₂ (Drip method);
I₃ (Chapin tape method);
 - c) Ultimate treatments (3) : Levels of irrigation :
L₁(0.3CPE/ Epan); L₂ (0.6CPE / Epan); L₃ (0.9CPE./ Epan).
(CPE – for Furrow method, and Epan - for Drip and Chapin tape method)
- Treatment combinations: (2 × 3 × 3) = 18

Each main treatment consisted of 27 plots whereas sub-treatment and ultimate treatment had 18 plots each. Data was collected as per the crop schedule, compiled and computed for statistical analysis as per the experimental plot design (split-split plot design).

Application of farmyard manure and chemical fertilizers and cultural practices were attended as per the package of practices recommended for mulberry under irrigated conditions (Bongale, 1995; Jolly, 1987). Harvesting was done by pruning for every harvest by following step up method with a basal height of 30 cm height from the ground. Leaf yield was recorded by harvesting all the plants of the micro plot and the yield computed as kg/ha. A multi × bivoltine cross breed (PM × NB₄D₂) silkworm race hybrid was used for the bioassay adopting standard method of rearing (Jolly, 1987). After second moult 100 larvae/replication were taken from chawki reared batch of larvae. Leaf was given to the worms for feeding from respective plots as per the treatments. Larval weight was recorded during V instar at maximum growth stage. At the time of cocoon harvesting, cocoon assessment was made for effective rate of rearing (ERR), pupation rate, single cocoon weight and cocoon-shell ratio (CSR).

RESULTS

Major observations of results of selected parameters, namely, leaf yield, effective rate of rearing (ERR), pupation rate, single cocoon weight and cocoon – shell ratio from a total of four crops harvested during non rainy period for 1998-99 and 99-2000 with bioassay for 2 crops during January 2000 to May 2000 are given as follows (Tables I-IV):

Leaf yield (Tables – I & II):

From among the main effects, highest leaf yield were recorded in 60 × 60 cm spacing (10,090 kg/ha/crop), drip irrigation (9,564 kg/ha/crop) and 0.9 CPE/Epan (10,278 kg/ha/crop) compared to other respective treatments. Treatment differences in plant spacings and levels of irrigation were highly significant, while methods of irrigation recorded non-significant treatment differences. Highly significant interactions were recorded for spacing × methods of irrigation, while spacing × levels of irrigation, methods × levels of irrigation and spacing × methods × levels of irrigation were non-significant.

Table I. Leaf yield (kg/ha/crop) (Pooled of 4 crops - Non rainy period) for 1998-99 & 99-2000 and rearing parameters (pooled of two bioassay trial, Jan-May 2000).

Tableau I. Rendement en feuilles (kg / ha / récolte) (Regroupement de 4 récoltes – Période sans pluies) en 1998 – 99 & 99 – 2000 et paramètres d'élevage (regroupement de deux évaluations biologiques, Jan-Mai 2000).

Sl. No.	Particulars	Leaf yield kg/ha/crop	ERR %	Pupation rate	Single cocoon weight	CSR %
No. de série	Caractéristiques	Rendement en feuilles kg/ha/récolte	Taux effectif d'élevage %	Taux de nymphe	Poids d'un cocon (g)	Richesse soyeuse (%)
Main treatment (Spacing) (M) / Traitement principal (Espace) (M)						
1	60cm× 60cm	10090	98.07	94.04	1.92	18.80
2	120cm× 60cm	8709	97.50	94.17	1.98	18.58
	F- test	HS	*	NS	NS	NS
	C D at 5%	563	0.52	—	—	—
	C D at 1%	1299	—	—	—	—
Sub tr. (Methods of irrigation) (S) / Sous-tr. (Méthodes d'irrigation) (S)						
1	Furrow method	9133	98.39	94.50	1.92	18.70
	Méthode avec sillon					
2	Drip method	9564	98.44	94.03	1.98	18.60
	Méthode du goutte à goutte					
3	Chapin tape method	9501	96.53	93.78	1.96	18.77
	Méthode du ruban Chapin					
	F- test	NS	NS	NS	*	NS
	C D at 5%	—	—	—	0.05	—
	C D at 1%	—	—	—	—	—
Ultimate tr. (Levels of irrigation) (U) / Tr. ultime (Niveaux d'irrigation) (U)						
1	0.3CPE/Epan	8496	96.72	93.28	1.96	18.78
2	0.6CPE/Epan	9425	96.11	94.50	1.97	18.45
3	0.9CPE/Epan	10278	98.53	94.53	1.93	18.87
	F- test	HS	*	NS	NS	NS
	C D at 5%	325	1.39	—	—	—
	C D at 1%	469	—	—	—	—
Significant interactions		M×S		M×S×U		M×S
Interactions significatives						

Rearing parameters (Pooled data of two bio assay trials of Jan-May 2000) :

Effective rate of rearing (ERR) (Table I):

Highest ERR was recorded in 60 × 60 cm spacing (98.07 %), drip irrigation (98.44 %) and 0.9CPE /Epan (98.53 %) as compared to other treatments as main effects (97.50 %, 96.53 % and 96.11 % in 120 × 60 cm spacing, chapin tape irrigation and 0.6CPE /Epan respectively). There were significant treatment differences in spacings and levels of irrigation and non - significant treatment differences were recorded in methods of irrigation and among all interactions.

Table II. Leaf yield (kg/ha/crop) (Pooled of 4 crops -Non rainy period) for 1998-99 & 99-2000.

Tableau II. Rendement en feuilles (kg / ha / récolte) (Regroupement de 4 récoltes – Saison sans pluies) en 1998 – 99 & 99 – 2000.

(Interactions)

Main × Sub treatments	Furrow method	Drip method	Chapin. T. Method
<i>Traitements principaux × sous-traitements</i>	<i>Méthode du sillon</i>	<i>Méthode du goutte à goutte</i>	<i>Méthode du ruban Chapin</i>
60 × 60 cm	9060	10811	10399
120 × 60 cm	9207	8318	8603
F- test	**		
C D at 5%	800	829	
C D at 1%	1165	—	

Table III. Pupation rate % (Pooled of two bioassay trial, Jan-May 2000).

Tableau III. Taux de nymphose (Regroupement de deux essais d'évaluation biologique, Jan-Mai 2000).

Main × Sub × Ultimate treatments	60 × 60 cm + Furrow	120 × 60cm + Furrow	60 × 60 cm + Drip	120 × 60 cm + Drip	60 × 60 cm + Chapin	120 × 60 cm + Chapin
<i>Traitements principaux × sous-traitements × traitements ultimes</i>	<i>60 × 60 cm + Sillon</i>	<i>120 × 60cm + Sillon</i>	<i>60 × 60 cm + Goutte à goutte</i>	<i>120 × 60 cm + Goutte à goutte</i>	<i>60 × 60 cm + Chapin</i>	<i>120 × 60 cm + Chapin</i>
0.3CPE/Epan	93.67	94.33	92.17	96.67	93.83	89
0.6CPE/Epan	92.67	96.33	97	93.67	93.17	94.17
0.9CPE/Epan	92.83	97.17	89.33	89.33	95.67	96.83
F- Test	*					
CD at 5%	3.42	2.12	3.59			

Pupation rate (Tables I & III):

Highest pupation rate was recorded in 120 × 60 cm spacing (94.17 %), furrow irrigation (94.50%) and 0.9 CPE /Epan (94.53 %) as compared to 93.28% to 94.04% in other treatments with non-significant treatment differences. Significant differences were recorded in the interactions of

spacing $\times$ methods $\times$ levels of irrigation with non-significant differences in spacing $\times$ methods of irrigation, spacing $\times$ levels of irrigation and methods $\times$ levels of irrigation.

Single cocoon weight (Table I):

Highest single cocoon weight was recorded in 120 $\times$ 60 cm spacing (1.98 g), drip irrigation (1.98 g) and 0.6 CPE/Epan (1.97 g) compared to other treatments. Significant treatment differences were observed in methods of irrigation with non-significant treatment differences in spacings, levels of irrigation and among all interactions.

Table IV. Cocoon - shell ratio (CSR %) (Pooled of two bioassay trial, Jan-May 2000).

Tableau IV. Richesse soyeuse du cocon (% CSR) (Regroupement de deux évaluations biologiques, Jan-Mai 2000).

(Interactions)

Main $\times$ Sub treatments	Furrow method	Drip method	Chapin. T. Method
<i>Traitements principaux $\times$ sous-traitements</i>	<i>Méthode du sillon</i>	<i>Méthode du goutte à goutte</i>	<i>Méthode du Ruban Chapin</i>
60 $\times$ 60 cm	19.10	18.65	18.64
120 $\times$ 60 cm	18.30	18.54	18.91
F- Test	*		
CD at 5%	0.59	0.66	

Cocoon-shell ratio (Tables—I & IV):

Highest cocoon-shell ratio was recorded in 60 $\times$ 60 cm spacing (18.80 %), chapin tape irrigation (18.77 %) and 0.9CPE /Epan (18.87 %) as compared to other treatments (18.45% to 18.7%) with non-significant differences. In interactions, highest cocoon-shell ratio was recorded in the treatment combination of 60 $\times$ 60 cm + Furrow method + 0.3 CPE/Epan (19.45%). The interaction of spacing $\times$ methods of irrigation was significant, while those of spacing $\times$ levels of irrigation, methods $\times$ levels of irrigation and spacing $\times$ methods $\times$ levels of irrigation were non significant.

DISCUSSION

In the present study irrigation was given based on open pan evaporation daily through microirrigation systems (drip and chapin tape) and once in 7 days through furrow method for non-rainy period crops. In drip and chapin tape methods, irrigation was given at 0.3 Epan, 0.6 Epan and 0.9 Epan as 0.145 ha-cm, 0.29 ha-cm and 0.435 ha-cm respectively. In furrow method, irrigation was given at 0.3 CPE, 0.6 CPE and 0.9 CPE as 1.02 ha-cm, 2.03 ha-cm and 3.05 ha-cm, respectively.

Results obtained indicated that among the spacings, 60 × 60 cm spacing showed better performance on leaf yield. There was an increase of 16 % leaf yield over 120 × 60cm spacing. In methods of irrigation, better performance was observed in drip method on leaf yield with an increase of 19 % leaf yield over furrow method of irrigation in closer spacing. In levels of irrigation, 0.9 CPE/Epan showed higher leaf yield (9-21%) than 0.6 CPE/Epan and 0.3 CPE/Epan. Mishra and Chowdhury (1996) reported that among the three levels of irrigation, significantly maximum leaf yield of 37,402 kg/ha was recorded in drip irrigation with water input of 80 % PE than that of 60 % and 40 % PE, while in furrow system, the leaf yield increased steadily with increase in frequency of irrigation. Shankar *et al.*, (1996) reported that among the conventional furrow irrigation system in comparison with drip system in terms of leaf yield, water saving and water use efficiency revealed that drip system of irrigation was most efficient system which resulted in saving of 20-40 % irrigation water.

In the present study among the rearing parameters highest ERR (%) and cocoon-shell ratio (%) were recorded in the treatments 60 × 60 cm with micro irrigation system at 0.9 CPE/Epan; while for the single cocoon weight, significant treatment difference was observed in methods of irrigation. Saratchandra *et al.*, (1992) reported that the bioassay studies of the leaf obtained in different treatments did not show any considerable variations indicating that the drip or sprinkler system can be employed without any adverse effect on cocoon yield, suggesting that the factors which can be considered in deciding the efficiency of these systems in sericulture are leaf yield and the water saving.

CONCLUSION

It is concluded that the efficiency of drip irrigation was better in 60 × 60 cm spacing i.e. 30-60 % saving of irrigation water with an increase of 19 % leaf yield over furrow method of irrigation. In the bioassay study different treatment combinations did not show much variations indicating that microirrigation systems can be adopted in mulberry garden without any adverse effect on cocoon yield. Among 18 treatment combinations, 60 × 60 cm plant spacing, drip irrigation and 0.9CPE/Epan combination was found to be better in overall performance compared to others. The study revealed that the micro irrigation systems performed better with 30-60 % saving of irrigation water associated with yield improvements compared to furrow method.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thanks the authorities of the Institute for the facilities, and Statistical Officer for the statistical analysis.

REFERENCES

- BONGALE U. D. (1995) Fertilizers in mulberry cultivation. Pushpaseri Publications, Thalagattapura, Bangalore – 62. India. pp. 134.
- BONGALE U. D. AND SIDDALINGASWAMY N. (2003) Irrigation for mulberry. KSSRDI Publication No-46, Thalagattapura, BANGALORE-62, India. pp. 131.
- JACKSON M.L. (1973) Soil chemical analysis. Prentice Hall: New Delhi. India.pp. - 448
- JOLLY M.S. (1987) Appropriate sericulture techniques. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India. pp.-175.
- MISHRA R.K., CHOUDHURY P.C. AND GHOSH A. (1995) Scheduling of irrigation and its optimization in tropical mulberry. In Currtechnol. Sem. Mulb. &Silk worm Breed &Genet. Mol. Biol. &Agric.Sept.20-22, pp.34.
- MURALIDHARA H. R., GUNDURAO D. S., SARPESHKAR A. M. AND RAMAIAH R. (1994) Is drip irrigation viable for mulberry cultivation-an economic analysis. Mysore J. Agric. Sci., 28: 256-260.

- RAMAN S. (1999) Status of research on micro irrigation for improving water use efficiency in some horticultural crops. National seminar on problems and prospects of micro irrigation – A critical appraisal. Nov.19-20, pp. 31-45.
- SARATCHANDRA B., RAJANNA L., PARAMESHA C., JAYAPPA T., SUBITHA M.G., PHILOMENA K. L. AND RAMESH S.P. (1992) Studies on the comparative efficiency of drip, sprinkler and furrow irrigation systems on mulberry leaf yield and water economy. *Sericologia*. 32(1): 95-100.
- SHANKAR M.A., DEVAIAH M.C., PARAMESHBABU V., CHOWDEGOWDA M., CHINNASWAMY K.P. AND JANARJUNA S. (1996) Comparative performance of drip irrigation systems in mulberry. In, All India seminar on modern irrigation techniques. Proc. pp.151-154.

ETUDE SUR LA VALIDITE DES SYSTEMES DE MICRO-IRRIGATION POUR LE RENDEMENT EN FEUILLES DE MURIER ET L'ELEVAGE DU VER A SOIE

N. SIDDALINGASWAMY, U. D. BONGALE, S. N. NARAYANAGOWDA &
R. M. SHIVAPRAKASH

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

Nous avons réalisé une expérience sur le terrain avec les méthodes d'irrigation par sillon, goutte à goutte ou avec ruban chapin avec trois niveaux d'Epan en l'occurrence 0,3 ; 0,6 et 0,9 (c'est à dire Evaporation Cumulative à la Casserole (CPE) / Evaporation à la Casserole) et deux espacements de plants (60 × 60 cm et 120 × 60 cm) pour la variété de mûrier M5 de 1997-2000 avec un total de dix récoltes prises au cours de cette période. Cela couvre quatre récoltes expérimentales dont deux pour l'évaluation biologique pendant la période sans pluies. Les données regroupées pour quatre récoltes sur deux années pendant la période sans pluies donnent le rendement foliaire le plus élevé avec l'espacement de 60 × 60 cm (10 090 kg / ha / récolte), la méthode du goutte à goutte (9 564 kg / ha / récolte) et 0,9 CPE / Epan (10 278kg / ha / récolte) et montrent parmi les principaux effets étudiés des différences très significatives entre les traitements d'espacements des plants et des niveaux d'irrigation. Parmi les interactions de traitement, on obtient le rendement foliaire le plus élevé avec la combinaison de traitement de 60 × 60 cm + méthode de goutte à goutte + 0,9 CPE / Epan (11 991 kg / ha / récolte). Les données regroupées concernant les deux évaluations biologiques montrent que les valeurs d'ERR (taux effectif d'élevage) les plus élevées sont enregistrées avec l'espacement de plant de 60 × 60 cm (98,08 %), l'irrigation par goutte à goutte (98,45 %) et 0,9 CPE/Epan (98,53 %) tandis qu'on enregistre la richesse soyeuse la plus élevée avec l'espacement de 60 × 60 cm (18,8 %) et 0,9 CPE / Epan (18,87 %) et le poids de cocon le plus élevé avec la méthode d'irrigation au goutte à goutte (1,98 g). L'étude révèle que les systèmes de micro-irrigation donnent une meilleure performance avec 30 à 60 % d'économie de l'eau d'irrigation associée à des améliorations de rendement par comparaison à la méthode des sillons.

INTRODUCTION

Dans des conditions de gestion correcte, l'agriculture irriguée peut augmenter la productivité de manière considérable. Au cours du siècle dernier, on a pu augmenter rapidement la production de soie mûrier en Inde grâce à l'irrigation. Mais, les ressources d'eau utilisables disponibles en Inde grâce aux technologies d'irrigation actuelle ne pouvant irriguer qu'une partie des terres cultivables, pourraient augmenter grâce à des technologies de gestion de l'eau appropriées telles que la micro-irrigation. Parmi les interventions technologiques disponibles facilitant l'économie des ressources en eau il faut citer notamment l'irrigation au goutte à goutte ou par filet d'eau (Bongale et Siddalingaswamy, 2003). Quelques études réalisées avec le mûrier ont révélé qu'il est possible d'économiser 45-60 % d'eau en adoptant l'irrigation du mûrier par goutte à goutte par comparaison à l'irrigation au moyen de sillons (Muralidhar, 1993 ; Saratchanda et coll., 1992 ; Shankar et coll., 1993) ce qui indique qu'il existe des possibilités d'études sur le sujet. Nous avons donc entrepris l'étude actuelle.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons réalisé l'étude avec la variété de mûrier M-5 au campus de l'Institut (KSSRDI) pendant 3 ans (1997-2000), la première année étant considérée comme l'année d'établissement. Sur un total de dix récoltes pendant deux années de suite (1998-2000), on a pris quatre récoltes expérimentales (deux pour chaque année) pendant la saison sans pluies avec une évaluation biologique pour 2 récoltes de janvier 2000 à mai 2000. Le sol est composé de terreau argileux sablonneux rouge au pH de 7,55 et 0,47 dS/m de CE. La capacité du terrain de 0 à 90 cm est de 24,2 % et le point de flétrissure permanent est de 14,5 % (méthode avec un appareil à plaque de pression sur membrane) et la densité brute est de 1,47 g/cc (méthode d'échantillonnage central). L'expérience est conçue selon 18 combinaisons de traitements en trois répétitions. Les détails du traitement sont comme suit :

- a) Traitement principal (2) : Espacements des plants : S1 (60 × 60 cm) ; S2 (120 × 120 cm) ;
 - b) Sous-traitements (3) : Méthodes d'irrigation :
 I₁ (méthode du sillon) ; I₂ (méthode du goutte à goutte) ;
 I₃ (méthode du ruban Chapin)
 - c) Traitements ultimes (3) : Niveaux d'irrigation :
 L₁ (0,3 CPE / Epan) ; L₂ (0,6 CPE / Epan) ; L₃ (0,9 CPE / Epan)
- (CPE – pour la méthode par sillon et Epan – pour la méthode du goutte à goutte et du ruban Chapin)
- Combinaisons de traitement : (2 × 3 × 3) = 18

Chaque traitement principal est constitué de 27 parcelles tandis que les sous-traitements et le traitement ultime comprennent chacun 18 parcelles. On recueille, on rassemble et on calcule les données en fonction du programme de récoltes pour l'analyse statistique d'après la conception expérimentale en parcelles (conception en parcelles divisées).

On procède à l'application de fumure et d'engrais chimiques et aux pratiques de culture d'après l'ensemble des pratiques recommandées pour le mûrier dans des conditions d'irrigation (Bongale, 1995 ; Jolly, 1987). On procède à la taille pour chaque récolte en suivant une méthode par paliers avec une hauteur de base à 30 cm du sol. On enregistre le rendement foliaire en recueillant tous les plants de la micro-parcelle et on calcule le rendement en kg / ha. On utilise un hybride de ver à soie poly × bivoltin (PM × NB4D2) pour l'évaluation biologique en adoptant une méthode habituelle d'élevage (Jolly, 1987). Après la deuxième mue on prend 100 larves / répétition à partir du lot de larves "chawki" élevées. On nourrit les vers avec les feuilles des parcelles des traitements respectifs. On enregistre le poids larvaire pendant le 5^{ème} âge à l'étape de croissance maximum. Au moment du recueil des cocons, on évalue le taux effectif d'élevage (ERR), le taux de nymphose, le poids du cocon et la richesse soyeuse (CSR) des cocons.

RESULTATS

Les principaux résultats pour les paramètres sélectionnés, en l'occurrence, le rendement foliaire, le taux effectif d'élevage, le taux de nymphose, le poids du cocon et la richesse soyeuse du cocon sur un ensemble de quatre récoltes, recueillis pendant la période sans pluies en 1998-99 et 99-2000 avec une évaluation biologique pour 2 récoltes de janvier 2000 à mai 2000 sont présentés ci-dessous (Tableaux I à IV) :

Rendement foliaire (Tableaux I & II) :

Parmi les principaux effets, on enregistre le rendement foliaire le plus élevé avec l'espacement de 60 × 60 cm (10 090 kg / ha / récolte), l'irrigation au goutte à goutte (9 564 kg / ha / récolte) et 0,9 CPE / Epan (10 278 kg / ha / récolte). Les différences entre les traitements d'espacements des plants

et les niveaux d'irrigation sont très significatives, tandis que les méthodes d'irrigation donnent des différences non-significatives. On enregistre des interactions très significatives pour l'espacement $\times$ méthodes d'irrigation, tandis que l'espacement $\times$ niveaux d'irrigation, les méthodes $\times$ niveaux d'irrigation et l'espacement $\times$ méthodes $\times$ niveaux d'irrigation ne sont pas significatifs.

Paramètres d'élevage (données regroupées pour deux évaluations biologiques de jan-mai 2000) :

Taux effectif d'Élevage (ERR) (Tableau I) :

On enregistre l'ERR le plus élevé avec l'espacement de 60 $\times$ 60 cm (98,07 %), l'irrigation au goutte à goutte (98,44 %) et 0,9 CPE / Epan (98,53 %) par comparaison aux autres traitements (97,50 %, 96,53 % et 96,11 % respectivement avec l'espacement de 120 $\times$ 60 cm, l'irrigation avec ruban chapin et 0,6CPE / Epan). Il existe des différences de traitement significatives pour les espacements et les niveaux d'irrigation et on enregistre des différences de traitement non-significatives avec les méthodes d'irrigation et entre toutes les interactions.

Taux de nymphose (Tableaux I & III) :

On enregistre le taux de nymphose le plus élevé avec l'espacement de 120 $\times$ 60 cm (94,17 %), la méthode du sillon (94,50 %) et 0,9 CPE / Epan (94,53 %) par comparaison à 93,28 % et 94,04 % avec les autres traitements avec des différences de traitement non significatives. On enregistre des différences significatives pour les interactions entre espacement $\times$ méthodes $\times$ niveaux d'irrigation et des différences non-significatives entre l'espacement $\times$ méthodes d'irrigation, entre espacement $\times$ niveaux d'irrigation et méthodes $\times$ niveaux d'irrigation.

Poids du cocon (Tableau I) :

On enregistre le poids de cocon le plus élevé avec l'espacement de 120 $\times$ 60 cm (1,98 g), l'irrigation par goutte à goutte (1,98 g) et 0,6 CPE / Epan (1,97 g) par comparaison aux autres traitements. On observe des différences significatives pour les méthodes d'irrigation et des différences non-significatives pour les espacements, les niveaux d'irrigation et les interactions.

Richesse soyeuse (Tableaux I & IV) :

On enregistre la richesse soyeuse la plus élevée avec l'espacement de 60 $\times$ 60 cm (18,80 %), l'irrigation par ruban chapin (18,77 %) et 0,9 CPE / d'Epan (18,87 %) par comparaison aux autres traitements (18,45 % à 18,7 %) avec des différences non-significatives. Dans les interactions, on enregistre la richesse soyeuse la plus élevée avec la combinaison de traitement de 60 $\times$ 60 cm + méthode du sillon + 0,3 CPE / d'Epan (19,45 %). L'interaction entre espacement $\times$ méthodes d'irrigation est significative tandis que celles entre espacement $\times$ niveaux d'irrigation, méthodes $\times$ niveaux d'irrigation et espacement $\times$ méthodes $\times$ niveaux d'irrigation ne sont pas significatives.

DISCUSSION

Dans cette étude, on fournit l'irrigation en se basant sur l'évaporation quotidienne d'une casserole sans couvercle grâce aux systèmes de micro-irrigation (goutte à goutte et ruban chapin) et une fois tous les 7 jours avec la méthode du sillon pour les récoltes de la période sans pluies. Avec les méthodes du goutte à goutte et du ruban chapin, on procède à une irrigation de 0,3 d'Epan, 0,6 d'Epan et 0,9 d'Epan soit respectivement 0,145 ha-cm et 0,435 ha-cm. Avec la méthode du sillon, on procède à une irrigation de 0,3 CPE ; 0,6 CPE et 0,9 CPE soit respectivement 1,02 ha-cm ; 2,03 ha-cm et 3,05 ha-cm.

Les résultats obtenus indiquent que l'espacement de 60 $\times$ 60 cm donne la meilleure performance pour le rendement foliaire. L'augmentation du rendement foliaire est de l'ordre de 16 % par rapport à l'espacement de 120 $\times$ 60 cm. Concernant les méthodes d'irrigation, on observe la meilleure performance avec la méthode du goutte à goutte pour le rendement foliaire avec une augmentation

du rendement foliaire de 19 % par rapport à la méthode d'irrigation par sillon et l'espacement le plus resserré. Concernant les niveaux d'irrigation, le CPE / Epan à 0,9 donne un rendement foliaire (9-21 %) supérieur à celui obtenu avec 0,6 CPE / Epan et avec 0,3 CPE / Epan. Mishra et Chowdhury (1996) ont rapporté que parmi les trois niveaux d'irrigation, on enregistre un rendement foliaire maximum de 37 402 kg /ha avec l'irrigation au goutte à goutte avec un apport d'eau de 80 % de PE plus qu'avec 60 % et 40 % de PE, tandis qu'avec la méthode du sillon, le rendement foliaire augmente régulièrement avec l'augmentation de la fréquence d'irrigation. Shankar et coll., (1996) ont rapporté qu'entre le système d'irrigation conventionnel par sillons et le système du goutte à goutte en termes de rendement foliaire, d'économie d'eau et d'efficacité d'utilisation de l'eau, le système du goutte à goutte est le plus efficace, il permet d'économiser 20 à 40 % d'eau d'irrigation.

Dans cette étude, en ce qui concerne les paramètres d'élevage, on enregistre l'ERR (%) et la richesse soyeuse (%) les plus élevés avec les traitements de 60 cm × 60 cm avec le système de micro-irrigation de 0,9 CPE /Epan ; tandis que pour le poids du cocon, on observe une différence significative entre les méthodes d'irrigation. Saratchandra et coll., (1992) ont rapporté que les études d'évaluation biologique de la feuille ne montrent pas de variations considérables entre les différents traitements, ce qui indique que l'on peut employer le système de vaporisation ou de goutte à goutte sans effet néfaste sur le rendement en cocons, ce qui montre que les facteurs à prendre en considération pour décider de l'efficacité de ces systèmes en sériciculture sont le rendement foliaire et l'économie d'eau.

CONCLUSION

On en conclut que l'efficacité de l'irrigation au goutte à goutte est meilleure avec l'espacement de 60 × 60 cm c'est à dire que l'on réalise 30 à 60 % d'économie de l'eau d'irrigation avec une augmentation du rendement foliaire de 19 % par rapport à la méthode d'irrigation par sillon. Au cours de l'évaluation biologique, les différentes combinaisons de traitement ne présentent pas de variations importantes, ce qui indique que l'on peut adopter les systèmes de micro-irrigation pour la mûraie sans aucun effet négatif sur le rendement en cocons. Parmi les 18 combinaisons de traitement, la combinaison d'espacement de 60 × 60 cm avec la méthode du goutte à goutte et de 0,9 CPE/Epan s'avère la meilleure pour la performance globale par comparaison aux autres. L'étude révèle que les systèmes de micro-irrigation donnent une meilleure performance avec 30 à 60 % d'économie de l'eau d'irrigation associés à des améliorations de rendement par rapport à la méthode du sillon.

REARING PERFORMANCE OF MUGA ON THE PRIMARY AND SECONDARY FOOD PLANTS WITH AN ATTEMPT FOR THE REVIVAL OF NOW EXTINCT MEJANKARI SILK HERITAGE OF ASSAM

SURESH SAIKIA^{1*}, RUMA HANDIQUE², ARUN PATHAK³ & KHARGESWAR DAS⁴

1. Head of Botany Dept., Gargaon College, Simaluguri, India.
2. Dept. of Life Science, Dibrugarh University, India.
3. Director of Research, Assam Agriculture University, Jorhat, India.
4. Senior Scientific Officer, Central Silk Board, India.

Muga (*Antheraea assama* Ww.) is reared on traditional primary host plants Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F), Soalu (*Litsea polyantha* Juss) and now abandoned secondary host plant Mejankari (*Litsea citrata* Blume) and Dighlati (*L. salicifolia* Roxb) to produce the traditional Muga silk from the primary host plant and to produce the now extinct Mejankari silk, a glorious silk heritage of Assam which was used up to the later part of the 19th century by the royal Ahom families and the elites. Comparative studies on the rearing performance of Jethua crop (June-July) is made to evaluate the efficacy of the rearing performance.

Keywords:

Muga (*Antheraea assama* Ww.), Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost), Soalu (*Litsea polyantha* Juss.), Dighloti (*Litsea salicifolia* Roxb), Mejankari (*Litsea citrata* Blume), Champa (*Michelia champaca*), Bogori (*Zizipus jujuba*), Jethua crop (June – July crop).

INTRODUCTION

Muga (*Antheraea assama* Ww.) is a multivoltine and polyphagus non-mulberry silkworm, endemic to Assam, India only. It has a diversified food habit and based on the eating nature the plants have been classified into primary, secondary and tertiary type of food plants. Amongst them Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) and Soalu (*Litsea polyantha* Juss) are classified as primary food plants, Mejankari (*Litsea citrata* Blume) and Dighlati (*Litsea citrata* Roxb.) are treated as secondary food plants and Champa (*Michelia champaca*), Bogori (*Zizipus jujuba*) etc are treated as tertiary food plants (Choudhury 1981, Thangavelu *et al.*, 1988).

Although rearing of muga (*Antheraea assama* Ww.) in Assam, the only habitat of this silkworm, is on the decline (Thangavelu, 1991) even now some of the traditional rearers rear muga (*Antheraea assama* Ww.) on Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) in Upper Assam and on Soalu (*Litsea polyantha* Juss) in lower Assam. The silk produced by rearing on Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) and Soalu (*Litsea polyantha* Juss) is known as muga silk and the silk produced by rearing on Mejankari (*Litsea citrata* Blume) is known as Mejankari silk. Mejankari (*Litsea citrata* Blume) rearing was prevalent in the days of the Ahom rulers upto the last part of the 19th century and

* Address for correspondence : Suresh Saikia, Sankar Mandir Road, Sivasagar. Pin 785640, Assam, India.
E-mail : impi-4@yahoo.com

was exclusively worn by the royal families and the elites. With the rule of the Britishers, the royal patronisation was lost and as a result the Mejankari silk culture went into oblivion. The authors have not found the record of rearing of *Antherea* on Mejankari (*Litsea citrata* Blume) for at least the last 100 years. Therefore, attempts have been made for the revival of this lost Mejankari silk heritage of Assam.

MATERIALS AND METHODS

Disease free, healthy 50 DFL seeds of commercial Jethua crop (June-July 2001) were collected from Central Muga Research & Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat. A site at Namti dole, Sivasagar, Assam and the Farm of CSB, Lahdoigarh are selected with Mejankari (*Litsea citrata* Blume) plants of around 5 years old and a few Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost), Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) and Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb) plants of 6-7 years old. All the plants are bushy with luxurious foliage.

Details of rearing (Table I) like date of hatching, records of moulting, larval weights etc. were recorded and data are analysed.

RESULTS

The rearing in different food plants have clearly shown different eating behaviours. From the beginning, voracious eating is noticed on the primary food plant Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) followed by the other primary food plant Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost). The larval period is also minimum in Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) (21 days) followed by Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) (22 days). This eating pattern is also reflected in the final weight and size of the cocoons. In Soalu (*Litsea polyantha* Juss) size of larvae is 96 mm while in Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) it is 93 mm. Similarly, the weight of the male larvae are 10.7 g and 10.3 g respectively and that of the female larvae are 15.2 g and 13.7 g respectively. Due to minimum eating behaviour, the size and weight of the worms reared on Dighlati (*Litsaea salicifolia* Roxb.) and Mejankari (*Litsea citrata* Blume) shows minimum size and weight. The size of the worms are 91 mm in both and the weights are 7.5 g and 7.6 g respectively for the male worms and for the female worms 10 g and 10.2 g. Shell weights are also comparatively less in the larvae reared on these two plants. Some other behaviours are also noticed on the secondary food plants – Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb) and Mejankari (*Litsea citrata* Blume). Till the completion of IInd instar it shows the same behaviour pattern along with Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost). But after the entry into the IInd moult it took almost 48 hours for completion of this moult. Again after the completion of the IVth moult it took 7 days for spinning while the larvae from the primary food plants took only 4 days for spinning. As a result, the larval period on these two secondary food plants are maximum – extended upto 26 days. The size and the weight of the cocoons reared on these two secondary food plants are also less.

DISCUSSION

The rearing results that have emerged from the above records clearly indicate that the size and weight of the cocoons of the worms reared on Soalu (*Litsea polyantha* Juss) are of highest commercial value and it also took minimum larval period. From that angle the rearers should prefer to rear on Soalu (*Litsea polyantha* Juss.) only. But when we look into the cocoon qualities it is seen that Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) cocoons are superior with luxuriant golden colour and other qualities compared to that of Soalu (*Litsea polyantha* Juss) cocoons and therefore it has a better demand in the market. Regarding the rearing on the secondary food plants Dighlati (*Litsea salicifolia*

Roxb.) & Mejankari (*Litsea citrata* Blume), it is the common practice for the rearers to transfer to Dighlati (*Litsaea salicifolia* Roxb.) at the time of scarcity of leaves on the primary food plant.

Table I.

Tableau I.

		Som	Soalu	Dighlati	Mejankari
1	Date of hatching / Date d'éclosion	1-6-01	1-6-01	1-6-01	1-6-01
2	I st Moults in. / 1 ^{ère} mue Début	4-6-01	3-6-01	4-6-01	4-6-01
	Out. / Fin	5-6-01	4-6-01	5-6-01	5-6-01
3.	II Moults in. / 2 ^{ème} mue Début	7-6-01	6-6-01	7-6-01	7-6-01
	Out. / Fin	8-6-01	7-6-01	9-6-01	9-6-01
4.	III. Moults in / 3 ^{ème} mue Début	11-6-01	10-6-01	12-6-01	12-6-01
	Out. / Fin	17-6-01	16-6-01	19-6-01	19-6-01
5.	IV. Moults in / 4 ^{ème} mue Début	15-6-01	14-6-01	17-6-01	17-6-01
	Out / Fin	17-6-01	16-6-01	19-6-01	19-6-01
6.	Spinning / Filage	21-6-01	20-6-01	26-6-01	26-6-01
7.	Ist instar size / Taille du 1 ^{er} âge	11 mm	12 mm	11 mm	11 mm
	Wt. / Pds	140 mg.	155 mg	100 mg	100 mg
8.	II nd Instar size / taille du 2 ^{ème} âge	20 mm	22 mm	19 mm	19.5 mm
	Wt.	250 mg	260 mg	200 mg	210 mg
9.	III Instar size / Taille du 3 ^{ème} âge	42 mm	45 mm	39 mm	40 mm
	Wt. / Pds	900 mg	1290 mg	800 mg	830 mg
10.	Iv th Instar size / Taille du 4 ^{ème} âge	70 mm	70 mm	60 mm	62 mm
		3790 mg	4690 mg	3300 mg	3300 mg
11.	V th instar size / Taille du 5 ^{ème} âge	93 mm	96 mm	91 mm	91 mm
12	Weight male / Poids mâle	10.3 g	10.7 g	7.5 g	7.6 g
	Weight female / Poids femelle	13.7 g	15.2 g	10.0 g	10.2 g
13.	Larval period / Durée larvaire	21 days	20 days	26 days	26 days
		21 jours	20 jours	26 jours	26 jours
14.	Cocoon wt. / Poids du cocon	7.6 g	8.7 g	5.50 g	5.57 g
15.	Shell wt. / Poids de la coque	0.73 g	0.82 g	0.35 g	0.38 g

Moreover, some of the rearers also transfer the weak worms to the bushy Dighloti (*Litsea salicifolia*) for easy inspections. Therefore, the rearing on Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb.) is only a stop gap method and from that angle, rearing on Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb.) can be encouraged. Regarding the rearing on Mejankari (*Litsea citrata* Blume), we have already mentioned in our introduction that it is already abandoned due to non-patronisation by the Ahom royalties. Though rearing on Mejankari (*L. citrata* Blume) has shown some negative aspects, it has also many positive aspects. It took a longer larval period. This may be due to the fact that for generations together it is not accustomed with this eating behaviour and for that reason the eating habit may become slow. As a result, the weight and length of the cocoons became less. But on the other hand, it exhibited some characters that were found in historical records. The most prominent amongst them is the creamy white look of the cocoon and the soft silky character of the fabric which approaches the mulberry nature. Perhaps for these characters, mejankari silk was preferred by the Ahom royal families and the elites. Therefore, attempts should be made for the revival of the Mejankari silk heritages of Assam.

REFERENCES

- CHOU DHURY S. N. (1970) Eri, Muga, Pat. Assam Science Society, Gauhati, Assam.
 THANGAVALU K., CHAKRAVARTY A. K., BHAGABATI A. K. & ISA MD (1988) Handbook of Muga Culture, Central Silk Board.
 THANGAVALU (1991) Wild Sericigenous Insects of India. A need for Conservation, Wild Silkmoth II 1992, 71-77. Indian Silk Vol. 35, No. 12 Pp 33-35.

PERFORMANCE D'ELEVAGE DU MUGA SUR LES PLANTES HOTES PRIMAIRE ET SECONDAIRE DANS UN ESSAI POUR FAIRE REVIVRE LA SOIE MEJANKARI, PATRIMOINE DE L'ASSAM, AUJOURD'HUI ABANDONNEE

SURESH SAIKIA^{1*}, RUMA HANDIQUE², ARUN PATHAK³ & KHARGESWAR DAS⁴

1. Head of Botany Dept., Gargaon College, Simaluguri, Inde.
2. Dept. of Life Science, Dibrugarh University, Inde.
3. Director of Research, Assam Agriculture University, Jorhat, Inde.
4. Senior Scientific Officer, Central Silk Board, Inde.

Le muga (*Antheraea assama* Ww.) est élevé sur les plantes hôtes primaires traditionnelles Som (*Persea bombycina* King Ex. Hook (F) et Soalu (*Litsea polyantha* Juss) et sur les plantes hôtes secondaires maintenant abandonnées Mejankari (*Litsea citrata* Blume) et Dighlati (*L. salicifolia* Roxb) pour produire la soie Muga traditionnelle à partir de la plante hôte primaire et la soie Mejankari maintenant disparue, patrimoine glorieux de l'Assam qui a été utilisée jusqu'à la dernière moitié du 19^{ème} siècle par les familles royales Ahom et les élites. Nous avons procédé à des études comparatives sur la performance d'élevage de la récolte Jethua (juin-juillet).

INTRODUCTION

Le muga (*Antheraea assama* Ww.) est un ver à soie polyvoltin et polyphage non mûrier, propre à l'Assam, qui n'existe qu'en Inde. Il a une habitude alimentaire diversifiée et les plantes hôtes ont été classées en fonction de leur nature alimentaire en type primaire, secondaire et tertiaire. Parmi elles Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) et Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) sont classées comme plantes hôtes primaires, Mejankari (*Litsaea citrata* Blume) et Dighlati (*Litsaea citrata* Roxb.) sont des plantes hôtes secondaires et Champa (*Michelia champaca*) et Bogori (*Zizipus jujuba*) sont des plantes hôtes tertiaires (Choudhury, 1981 ; Thangavelu et coll., 1988).

Bien que l'élevage du muga (*Antheraea assama* Ww.) dans l'Assam, le seul habitat de ce ver à soie soit sur le déclin (Thangavelu, 1991), certains éleveurs traditionnels élèvent encore le muga (*Antheraea assama* Ww.) sur Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) dans le haut de l'Assam et sur Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) dans le bas de l'Assam. La soie produite par l'élevage sur Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) et sur Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) est connue comme la soie muga et la soie produite par l'élevage sur Mejankari (*Litsaea citrata* Blume) est connue comme la soie Mejankari. L'élevage Mejankari (*Litsea citrata* Blume) existait à l'époque des gouvernants Ahom jusqu'à la dernière partie du 19^{ème} siècle et sa soie était uniquement portée par les familles royales et les élites. Sous l'empire des Britanniques, l'autorité royale a disparu et par conséquent la culture de la soie Mejankari est tombée dans l'oubli. Les auteurs n'ont pas trouvé de rapport concernant l'élevage d'*Antheraea* sur Mejankari (*Litsea citrata* Blume) postérieur aux cent

* Adresse de correspondance : Suresh Saikia, Sankar Mandir Raod, Sivasagar. Pin 785640, Assam, Inde.
E-mail : impi-4@yahoo.com

dernières années. Nous avons donc fait des essais pour faire revivre ce patrimoine perdu de l'Assam, la soie Mejankari.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons recueilli cinquante pontes saines de la récolte commerciale de Jethua (juin –juillet 2001) au *Central Muga Research & Training Institute* du *Central Silk Board* à Lahdoigarh, Jorhat. Nous avons sélectionné un site à Namti dole, à Sivasagar dans l'Assam ainsi que la Ferme du CSB à Lahdoigarh avec des plantes Mejankari (*Litsea citrata* Blume) d'environ 5 ans et quelques plantes de Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost), de Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) et de Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb) de 6 à 7 ans. Tous les plants sont épais et ont un feuillage luxuriant.

Les données sur l'élevage (Tableau I) comme la date d'éclosion, les observations sur la muc, le poids larvaire etc... sont enregistrées et sont analysées.

RESULTATS

L'élevage sur les différentes plantes hôtes montre clairement des comportements alimentaires différents. Depuis le début, on a remarqué une alimentation vorace sur la plante hôte primaire Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) suivie par l'autre plante hôte primaire Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost). La durée larvaire est aussi minimum chez Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) (21 jours) suivie par Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) (22 jours). Ce comportement alimentaire se reflète aussi sur le poids final et sur la taille des cocons. Chez Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) la taille des larves est de 96 mm tandis que chez Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) elle est de 93 mm. De même, le poids des larves mâles est respectivement de 10,7 g et 10,3 g et celui des larves femelles de respectivement 15,2 g et 13,7 g. En raison du comportement alimentaire, les vers élevés sur Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb.) et sur Mejankari (*Litsea citrata* Blume) présentent une taille et un poids minimum. La taille des vers est de 91 mm chez les deux et les poids sont respectivement de 7,5 g et 7,6 g pour les vers mâles et de 10 g et 10,2 g pour les vers femelles. Les poids des coques soyeuses sont aussi comparativement moins importants chez les larves élevées sur ces deux plantes. On remarque aussi d'autres comportement sur les plantes hôtes secondaires – Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb) et Mejankari (*Litsea citrata* Blume). Jusqu'à l'achèvement du deuxième âge, on observe le même type de comportement que sur Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost). Mais après l'entrée dans la 2^{ème} mue, la larve prend près de 48 heures pour achever cette mue. A nouveau après la fin de la 4^{ème} mue, il lui faut 7 jours pour filer tandis que les larves sur les plantes hôtes primaires ne prennent que 4 jours pour filer. En conséquence, la durée larvaire sur ces deux plantes hôtes secondaires est maximum – jusqu'à 26 jours. La taille et les poids des cocons élevés sur ces deux plantes hôtes secondaires sont inférieurs.

DISCUSSION

Les résultats d'élevage tirés des observations ci-dessus indiquent clairement que la taille et le poids des cocons des vers élevés sur Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) sont les plus valables sur le plan commercial et ils ont aussi la durée larvaire la plus courte. De ce point de vue, les éleveurs devraient de préférence n'élever les vers à soie que sur Soalu (*Litsaea polyantha* Juss.). Mais quand nous observons la qualité des cocons, on s'aperçoit que les cocons Som (*Persea bombycina* King Ex Hook (F) Kost) sont supérieurs avec leur couleur dorée luxuriante et leurs autres qualités par comparaison aux cocons Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) et leur demande est donc supérieure sur le marché. En ce qui concerne l'élevage sur les plantes hôtes secondaires Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb.) et Mejankari (*Litsea citrata* Blume), il est courant que les éleveurs passent sur Dighlati (*Litsea salicifolia* Roxb.) au moment du manque de feuilles de la plante hôte primaire.

De plus certains éleveurs transfèrent aussi les vers faibles sur Dighlati au feuillage abondant (*Litsaea salicifolia*) pour les inspecter facilement. Donc l'élevage sur Dighlati (*Litsaea salicifolia* Roxb.) n'est qu'une méthode temporaire et de ce point de vue on peut encourager l'élevage sur Dighlati (*Litsaea salicifolia* Roxb.). En ce qui concerne l'élevage sur Mejankari (*Litsaea citrata* Blume), nous avons déjà mentionné dans notre introduction qu'il est tombé dans l'oubli en raison de l'abandon par les royautés Ahom. Bien que l'élevage sur Mejankari (*L. citrata* Blume) ait des aspects négatifs, il présente aussi de nombreux aspects positifs. La durée larvaire est plus longue ; cela pourrait être dû au fait que pendant des générations, il n'a pas été habitué à ce comportement alimentaire. En conséquence, le poids et la longueur des cocons sont devenus inférieurs. Mais en revanche, il présente certains des caractères rapportés dans les annales historiques. Le plus marquant est l'apparence blanc crémeux de son cocon et l'aspect doux et soyeux de son tissu qui se rapproche de la nature de la soie mûrier. C'est peut-être pour ces caractères que la soie Mejankari était préférée par les familles royales Ahom et les élites. Il faudrait donc essayer de faire revivre le patrimoine de la soie Mejankari de l'Assam.

REPORT OF BACTERIAL BLIGHT IN MULBERRY FROM NORTHERN KARNATAKA AND ITS MANAGEMENT

M. R. RAVIKUMAR, B. G. PRAKASH & SHAMARAO JAHAGIRDAR

College of Agriculture & Regional Research Station, Bijapur – 586 101 (Karnataka).

Bacterial blight of mulberry noticed for the first time in Regional Research Station, Bijapur during October 2001 on freshly pruned mulberry garden. The pathogen associated was isolated and identified as *Xanthomonas campestris* P.v. *moricola* and its pathogenicity was proved by artificial inoculation. Out of 15 germplasm collection for dry land adaptation the genotypes S-1635 (15% bud infection and 5% leaf infection) and TR-8 (5% bud infection and two percent leaf infection) showed disease appearance. *In vitro* evaluation identified effectiveness of antibiotics bacrinol-100 @ 500 ppm followed by streptomycin sulphate @ 500 ppm. The suggested management includes spraying with bacrinol-100 @ 0.5g/l or streptomycin sulphate @ 0.5 g/l or streptocycline @ 0.5 g/l in bacterial blight infected mulberry garden.

Keywords: Bacterial blight, antibiotics and management.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus alba* L.) is the only food plant of *Bombyx mori* L. The leaf of mulberry plant is used as food for silkworms which decide on the success of cocoon crop (Miyashita, 1986), mulberry has got fast growing plant habit and the leaf is rich in proteins, sugars and moisture content. The annual leaf yield loss due to major diseases is estimated to be 20-30% (Philip *et al.*, 1994). Mulberry is known to be affected by different group of pathogens like fungi, bacteria, viruses and phytonematodes causing leaf spot, leaf blight, root knot, rust, mosaics, etc. The bacterial blight of mulberry was earlier reported by Srinivaschary *et al.*, (1996) and Nagaraj *et al.*, 1999 from southern Karnataka and it was reported that the causal agent was *Xanthomonas campestris* P.v. *moricola*. Recently, on freshly pruned garden, bacterial blight was noticed on cultivars S-1635 and TR-8 varieties. Thus, the investigations on etiology and management of bacterial blight of mulberry were undertaken at Regional Research Station, Bijapur.

MATERIALS AND METHODS

The infected samples showing typical symptoms of bacterial blight were collected from freshly pruned mulberry garden. The pathogen was isolated and identified by employing protocol given by Schaad (1988) and the medium was prepared as per the authors description. Isolations were made from infected buds and leaves diluted in sterile distilled water followed by dilution plate technique on nutrient agar medium. The symptomatology was studied in detail with symptoms on leaf, stem and bud infections. The pathogenicity test was conducted by spraying as well as by pin pricks methods with aqueous suspension of bacterium to twigs of mulberry plant. The bacterium was reisolated from sprayed twigs and compared with original culture and thus the pathogenicity was proved. The management strategies included screening of 15 germplasm collections for their varied infections to bacterial blight and screening of new antibiotic against bacterial blight pathogen by paper disc assay.

RESULTS AND DISCUSSION

The symptomatology studies revealed characteristics water soaked lesions on leaf, stem leading to blight. The bud infection is the typical symptom of the disease and it resulted in bud necrosis. The pathogen was isolated and identified as *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola*.

The colonies were light yellow, mucoid, glistening, slimy, convex, odour less and round. The pathogenicity was conducted successfully upon artificial inoculation with test pathogen.

Table I. Effect of chemicals / antibiotics against *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola* causing bacterial blight of mulberry.

Tableau I. Effet de produits chimiques / d'antibiotiques contre *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola* responsable de la flétrissure bactérienne du mûrier.

Treatment	Concentration (ppm)	Inhibition (mm)
<i>Traitement</i>		
Bactrinol-100	500	20
Streptomycin sulphate	500	15
Streptocycline	500	15
Bacteriomycin	500	12
Paushamycin	500	10
Copper oxychloride / <i>Oxychlorure de cuivre</i>	3000	08
Control / <i>Témoin</i>	-	00
S. EM±		2.42
C. D. (0.05)		NS

Out of fifteen germplasm collection for dry land adaptation, the genotypes S-1635 and TR-8 showed both leaf and bud infections. However, rests of the other entries were free from infections.

In vitro evaluation of antibiotics revealed that Bactrinol-100 @ 500 ppm (20 mm in inhibition) and streptomycin sulphate @ 500 ppm and streptocycline @ 500 ppm (15 mm inhibition) were found effective against *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola*. However, copper oxychloride was least effective against bacterial blight under laboratory conditions (Table I).

Ravikumar and Khan (2001) reported effectiveness of streptomycin sulphate or streptocycline against bacterial spot of tomato and effectiveness of streptomycin sulphate and streptocycline against bacterial spot of grape. Ravikumar *et al.*, 2001). Thus, the studies brought into light the occurrence of bacterial blight disease on freshly pruned garden in this location and suggested application of

Bactrinol-100 @ 0.5 g / l or streptomycin sulphate @ 0.5 g / l or streptocycline @ 0.5 g / l for management of bacterial blight disease on mulberry in Northern Karnataka.

REFERENCES

- MIYASHITA Y. (1986) Report on mulberry cultivation and training methods suitable to bivoltine rearing on Karnataka pp 1-7.
- NAGARAJ M. S., SHRINIVASCHARY & KHAN A. N. A. (1999) Screening of mulberry varieties for new bacterial blight caused by *Xanthomonas campestris* P.v. moroccola P. 127-128. In: The proceedings of national seminar on tropical sericulture. 28-30 Dec. 1999. 172 pp.
- PHILIP T., GUPTA V., GOVINDAIAH, BAJPAI A. K. & DATTA R. K. (1994) Disease of mulberry in India. Research priorities and management strategies. Int. J. Trop Plant Dis. 12, 1-21.
- RAVIKUMAR M. R. & KHAN A. N. A. (2001) Field Evaluation of Antibiotics and chemicals against bacterial spot of tomato in Karnataka. Pestology, XXV (6): 11-14.
- RAVIKUMAR M. R., SHAMARAO JAHAGIRDAR & RYAGI Y. H. (2001) Field screening of antibiotics and chemicals against bacterial leaf spot of grape caused by *Xanthomonas campestris* P.v. viticola. Paper presented in National symposium on Eco-friendly approaches for plant disease management. Centre for Advanced studies in Botany Guindy Campus. Chennai held on 22-24, Jan. 2001.
- SRINIVASCHARY KHAN A. N. A. & RAVIKUMAR M. R. (1996) Incidence of bacterial blight of mulberry and its control. In: Annual meeting and symposium on Epidemiology and management of plant diseases. Nov. 21-22. 1996 at UAS, Dharwad.
- SCHAAD N. W. (1988) Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. (2nd Edition) International Book Distributors, Chaman, Studio Building, 2nd Floor Lucknow, 164 pp.

RAPPORT SUR LA FLÉTRISSURE BACTÉRIENNE ET SUR SA GESTION CHEZ LE MURIER DANS LE NORD DU KARNATAKA

M. R. RAVIKUMAR, B. G. PRAKASH & SHAMARAO JAHAGIRDAR

College of Agriculture & Regional Research Station, Bijapur –586 101, Karnataka, Inde.

On a observé la flétrissure bactérienne du mûrier pour la première fois à la **Regional Research Station**, à Bijapur en octobre 2001 dans une mûraie fraîchement taillée. Nous avons isolé et identifié le pathogène associé qui est *Xantomonas campestris* Pv. *moricola* et nous avons prouvé sa pathogénicité par inoculation artificielle. Sur une collection de 15 germoplasmes adaptés à un terrain sec, les génotypes S-1635 (15 % d'infestation des bourgeons et 5 % d'infestation des feuilles) et TR-8 (5 % d'infestation des bourgeons et 2 % d'infestation de la feuille) présentent les signes de la maladie. L'évaluation *in vitro* nous a permis d'identifier l'efficacité de l'antibiotique bactrinol-100 à raison de 500 ppm suivi par le sulfate de streptomycine à raison de 500 ppm. La gestion proposée comprend la vaporisation avec du bactrinol-100 à raison de 0,5 g / l, du sulfate de streptomycine à raison de 0,5 g / l ou de la streptocycline à raison de 0,5 g / l dans une mûraie infestée par la flétrissure bactérienne.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus alba* L) est la seule plante hôte de *Bombyx mori* L. La feuille du plant de mûrier est utilisée comme nourriture pour les vers à soie et décide du succès de la récolte de cocons (Miyashita, 1986) ; le mûrier pousse vite et la feuille est riche en protéines, en sucres et en humidité. On estime que la perte de rendement annuelle due aux principales maladies est de l'ordre de 20 à 30 % (Philip et coll., 1994). On sait que le mûrier est affecté par différents groupes de pathogènes, comme les champignons, les bactéries, les virus et les phytonématodes qui provoquent la tache de la feuille, la flétrissure de la feuille, le nématode de la racine, la rouille, la mosaïque, etc. Srinivaschary et coll. (1996) et Nagaraj et coll., 1999 ont déjà observé la flétrissure bactérienne dans le sud du Karnataka et ont rapporté que l'agent responsable est *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola*. On a récemment observé la flétrissure bactérienne dans une mûraie fraîchement taillée sur les cultivars S-1635 et TR-8. Nous avons donc entrepris des études sur l'étiologie et la gestion de la flétrissure bactérienne du mûrier à la *Regional Research Station* de Bijapur.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons recueilli les échantillons infestés présentant des symptômes typiques de la flétrissure bactérienne dans une mûraie fraîchement taillée. Nous avons isolé le pathogène et nous l'avons identifié en employant le protocole proposé par Schaad (1988) et nous avons préparé le milieu d'après la description des auteurs. Nous avons procédé aux isollements à partir de bourgeons infestés et de feuilles diluées dans de l'eau distillée stérile et nous avons utilisé ensuite la technique de dilution sur plaque sur un milieu nutritif agar. Nous avons étudié la symptomatologie en fonction des symptômes d'infestation sur la feuille, sur la tige et sur les bourgeons. Nous avons réalisé le test de pathogénicité en vaporisant et en perforant avec une aiguille les branches du plant de mûrier avec une suspension

aqueuse de la bactérie. Nous avons ré-isolé la bactérie sur des branches vaporisées et l'avons comparée avec la culture originale et nous avons ainsi prouvé sa pathogénicité. Les stratégies de lutte comprennent l'analyse de 15 collections de germoplasmes différemment infestés par la flétrissure bactérienne et l'analyse d'un nouvel antibiotique contre le pathogène de la flétrissure bactérienne en l'évaluant sur un disque en papier.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les études de symptomatologie révèlent des lésions caractéristiques de détrempage sur la feuille et sur la tige qui entraînent la flétrissure. L'infestation du bourgeon est le symptôme typique de la maladie et elle entraîne la nécrose du bourgeon. Le pathogène isolé est identifié comme *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola*.

Les colonies sont jaune clair, mucoïdes, brillantes, gluantes, convexes, sans odeur et rondes. On induit la pathogénicité grâce à l'inoculation artificielle avec le pathogène modèle.

Sur une collection de quinze germoplasmes adaptés à un terrain sec, les génotypes S-1635 et TR-8 présentent tous les deux des infestations de la feuille et du bourgeon. Cependant, le reste des autres candidats ne présentent pas d'infestation.

L'évaluation des antibiotiques *in vitro* révèle que le Bactrinol-100 à raison de 500 ppm (20 mm d'inhibition), le sulfate de streptomycine à raison de 500 ppm et la streptocycline à raison de 500 ppm (15 mm d'inhibition) sont efficaces contre *Xanthomonas campestris* Pv. *moricola*. L'oxychlorure de cuivre est moins efficace contre la flétrissure bactérienne dans les conditions de laboratoire (Tableau I).

Ravikumar et Khan (2001) ont rapporté l'efficacité du sulfate de streptomycine ou de la streptocycline contre la tâche bactérienne de la tomate et l'efficacité du sulfate de streptomycine et de la streptocycline contre la tâche bactérienne du raisin (Ravikumar et coll., 2001). Les études ont donc mis en lumière la présence de la maladie de la flétrissure bactérienne dans une mûraie fraîchement taillée et proposent l'application de bactrinol-100 à raison de 0,5 g / l, de sulfate de streptomycine à raison de 0,5 g / l, de streptocycline à raison de 0,5 g / l pour la gestion de la maladie de la flétrissure bactérienne chez le mûrier dans le nord du Karnataka.

THE INCREASE OF PRODUCTIVITY OF MULBERRY PLANTATIONS AS A RESULT OF USING BACTERIAL FERTILIZERS

N. A. ALEKSEYCHENKO, A. V. GALANOVA, P. P. ANANYEV¹,
E. V. NADKERNICHNAYA & Y. A. GONCHAR²

1. The Institute for Sericulture of the Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Merefa, 62472
Kharkov provinces, Ukraine.

2. The Institute for Agricultural Microbiology 14027 Chernigov, Ukraine.

*The influence of bacterial fertilizers, which are made on the base of the strains of bacteria, selected from the nodules on the roots of the mulberry has been studied. The introduction of the active strains of diazotrophs in the root zone of the young mulberry plants allows to increase the crop of leaves of 39-80% within two years. The research found out, that the most effective from the six strains, selected from the nodules which had formed spontaneously on the roots of the mulberry plant, distinguished by intensive growth, were the strains of *Agrobacterium radiobacter* 51, *Agrobacterium radiobacter* C-7, *Azospirillum brasilense* 53, *Azospirillum brasilense* 54, and their mixes.*

Keywords: *Morus alba* L, fodder hybrid plantation, strains of diazotrops, bacterial fertilizer, productivity, crop of leaves.

INTRODUCTION

One of the effective methods for increasing productivity of agricultural crops is the usage of microbiological fertilizers created on the basis of active strains of nitrogen fixing micro-organisms, which promote the accumulation of biological nitrogen in soil, decrease the outlays for nitrogenous fertilizers, improve the ecological conditions of environment. The necessity of expansion of the application and perspectives in the given direction, which main advantages are the high effectivity and ecological safety, are marked also in the works of foreign authors (Bagyarai and Tilar (1997), Wichmann (1983), Manguiat *et al.* (1985).

The detection of the paranodulation phenomenon on the roots of the mulberry plant and its connection with quick increase in productivity of the plant, and besides, the high nitrogenfixing activity of the strains, selected from nodules of the mulberry, has allowed us to apply bacterial fertilizers to increase the productivity of plants in an additional branch of agricultural production – the branch of mulberry culture (Pilipenko *et al.*, (1992), Pilipenko and Yezerskaya, (1993).

From the nodules of mulberry 6 strains of bacterias, belonging to the genus of *Agrobacterium*, *Azospirillum* and *Alkaligenes*, having capacity to fix molecular nitrogen to some extent are selected (Pilipenko *et al.*, (1996), Nadkarnichnaya *et al.*, (2002). The analysis of the influence of bacterial fertilizers created on the base of strains *Agrobacterium radiobacter* 51 and *A. radiobacter* C-7 and also of the strains of *Azospirillum brasilense* 53 and *A. brasilense* 54 has shown the various capabilities of diazotrops to interact with the miscellaneous varieties of mulberry (Pilipenko *et al.*, (1998), Alekseychenko and Pilipenko, (1999). It has been proved, that the increment of a crop of mulberry

leaves, as a result of using these remedies averages from 14.6 up to 67.9 % depending on varieties of the experimental plants.

The purpose of our investigations was the analysis of the influence of the strains, selected from the nodules of the mulberry, on productivity of the young hybrid mulberry plantations, the influence on the structural parameters of the leaves' crop during the first and the second year after starting using bacterial fertilizers.

MATERIALS AND METHODS

The investigations were carried out at the Institute for Sericulture of the Ukrainian Academy of Agrarian Sciences in field experiments on the fodder hybrid (Kharkovskaya 3 × Ukrainskaya 1) mulberry plantations at the age of 4 years.

The bacterial fertilizers were made in the laboratory of the biological nitrogen of the Institute for Agricultural Microbiology. The strains of bacteria were selected on the clean culture from the nodules of the mulberry, they were identified and the most effective form of bacterial fertilizers was chosen on the base of the investigated strains to water the mulberry plants. The strains of *Azospirillum brasilense* 53, *A. brasilense* 54, *A. brasilense* 61, *Agrobacterium radiobacter* 51, *A. radiobacter* C7, *Alcaligenes paradoxus* 5, their mixes or consortiums were used for inoculation of the hybrid plantations.

The cultures of the investigated strains were grown on a fluid pea medium for obtaining the working culture at constant stirring during 48 hours at the temperature of 28–30° C. The sterile peat in packages was inoculated by an injection of the liquid culture, taking into account, that the humidity of the drug should be of 55–60 %. The packages were put into the thermostat at the temperature of 28° C for 7–10 days. The titer was 2–4 milliard cells per one gram of a remedy.

The inoculation of mulberry plants was performed by introducing the strains of the nitrogen-fixing bacteria into the root zone of plants while watering them. For this purpose a bacterial fertilizer in the quantity of 300–600 g per 10 l of water was put into the furrows on both sides under the mulberry plants at the rate of 20 or 40 g per one plant. The hybrid plants of the corresponding age, watered with the same quantity of water with the sterile peat were used for the control.

The investigations were carried out on the young hybrid mulberry plantations (4 years of age), pruned in summer. The height of mulberry boles was 0.60–0.70 m, the scheme of planting trees is 3 × 0.5 m.

The experimental data were analysed mathematically, using methods of the variation -statistics and dispersive analysis (Dospechov, 1972).

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of the obtained data testifies that the application of bacterial fertilizers made on the basis of the strains of the nitrogen-fixing bacteria, selected from the nodules from the roots of the mulberry, influenced quite effectively the growth and development of the young hybrid mulberry plantations (Tables I, II). The greatest influence on shoots' length of mulberry in one year of using fertilizers is rendered with strains' mix *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* C7 and *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* C7 + *A. brasilense* 54, under which action the gain of shoots' length was of 178.6–188.4 cm, which exceeds the control of 16–23 %. In variants of experience with entering into ground separate strains the maximal increase of shoots' length (from 173.2 up to 176.3 cm) was marked under the influence of *A. radiobacter* 51, *A. radiobacter* C7 and *A. brasilense* 53. Essential influence of bacterial fertilizers on increase of leaf surface parameters was marked also.

Table I. The influence of the nitrogen-fixing bacteria on the crop of leafs of the hybrid mulberry plantations.

Tableau I. Influence des bactéries fixant l'azote sur la récolte de feuilles dans les plantations de mûrier hybrides.

Variants of the experiment	Characteristic of the year's shoots			Characteristic of the leaf surface		
	Quantity of the used drug per 1 plant (g)	Length (cm)	Diameter (mm)	Length (cm)	Diameter (mm)	Crop of leaves per one tree (kg)
Variantes de l'expérience	Quantité de produit utilisé pour une plante	Caractéristiques des pousses de l'année		Caractéristiques de la surface de la feuille		
	(g)	Longueur (cm)	Diamètre (mm)	Longueur (cm)	Diamètre (mm)	Récolte de feuilles pour un arbre (kg)
Control (water) / Témoin (eau)		146.53	13.90	15.77	12.53	0.79
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> -51 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter - 51</i>	20	156.03***	15.20***	16.53*	12.60 ^{NS}	1.28**
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> -51 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter-51</i>	40	175.50***	16.40***	18.0***	14.30***	1.29*
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> -C7 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter-C7</i>	20	173.20***	16.27***	17.03**	13.20*	1.20**
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> -C7 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter-C7</i>	40	160.90***	15.30***	15.83 ^{NS}	12.27 ^{NS}	1.42***
Inoculation with the strain <i>A. paradoxuse</i> -5 <i>Inoculation avec la souche A. paradoxuse-5</i>	20	167.50***	15.67***	16.70*	13.57**	0.95 ^{NS}
Inoculation with the strain <i>A. paradoxuse</i> -5 <i>Inoculation avec la souche A. paradoxuse-5</i>	40	165.20***	15.83***	17.27***	13.6**	1.15 ^{NS}
Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -53 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-53</i>	20	159.10***	15.30***	18.23***	14.73***	1.17*
Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -53 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-53</i>	40	176.30***	16.50***	17.77***	13.77***	1.28**
Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -54 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-54</i>	20	170.97***	16.57***	17.80***	16.06***	1.09 ^{NS}

Tableau I. (Suite) / *Tableau I. (Continued).*

Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -54 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-54</i>	40	171.10***	16.13***	17.50***	14.50***	1.33***
Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -61 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-61</i>	20	163.80***	15.20***	16.13 ^{NS}	12.70 ^{NS}	1.14*
Inoculation with the strain <i>A. brasiliense</i> -61 <i>Inoculation avec la souche A. brasiliense-61</i>	40	163.50***	15.10***	16.67*	13.13 ^{NS}	1.22**
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51 + <i>A. radiobacter</i> C-7	20	166.87***	15.77***	14.40***	11.70*	1.97***
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51 + <i>A. radiobacter</i> C-7	40	178.83***	16.80***	15.43 ^{NS}	11.53**	1.37**
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -53 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -53	20	167.80***	15.67***	14.93*	11.83 ^{NS}	1.18*
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -53 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -53	40	160.83***	15.10***	15.57 ^{NS}	12.17 ^{NS}	1.36**
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -54 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -54.	20	188.43***	17.83***	16.77*	11.87 ^{NS}	0.96 ^{NS}
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -54 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> -51+ <i>A. radiobacter</i> -C-7+ <i>A. brasiliense</i> -54.	40	178.63***	16.47***	16.60*	12.47 ^{NS}	1.18*

*** Significant at 0,1 % level / *Significatif au seuil de 0,1 %*. ** Significant at 1 % level / *Significatif au seuil de 1 %*. * Significant at 5 % level / *Significatif au seuil de 5 %*. NS : Not significant / *Non significatif*.

Table II. The results of the after effect of the bacterial fertilizers on the hybrid mulberry plantations.

Tableau II. Résultats de l'effet des engrais bactériens sur les plantations de mûrier hybrides.

Variants of the experiment	Quantity of the used drug per 1 plant (g)	Characteristic of the year's shoots		Characteristic of the leaf surface		
		Length (cm)	Diameter (mm)	Length (cm)	Diameter (mm)	Crop of leaves per one tree (kg)
		Caractéristiques des pousses de l'année		Caractéristiques de la surface de la feuille		
Variantes de l'expérience	Quantité de produit utilisé par plante (g)	Longueur (cm)	Diamètre (mm)	Longueur (cm)	Diamètre (mm)	Récolte de feuilles par arbre (kg)
Control (water) / Témoin (eau)	—	146.53	13.90	15.77	12.53	0.79
Inoculation with the strain <i>A. brasilense</i> -53 <i>Inoculation avec la souche A. brasilense</i> 53.	20	148.60 ^{NS}	13.70 ^{NS}	17.10***	14.10***	1.19*
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> C7 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter</i> C7	20	153.30***	14.17 ^{NS}	17.90***	13.80***	0.83 ^{NS}
Inoculation with the strain <i>A. brasilense</i> 54 <i>Inoculation avec la souche A. brasilense</i> 54	20	154.67***	14.70*	16.87**	13.80***	1.21*
Inoculation with the strain <i>A. radiobacter</i> 51 <i>Inoculation avec la souche A. radiobacter</i> 51	20	171.70***	15.60***	17.13***	14.30***	1.10*
Inoculation with the strain <i>A. paradoxus</i> 5 <i>Inoculation avec la souche A. paradoxus</i> -5.	20	155.90***	14.67*	16.73*	13.40*	0.88 ^{NS}
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> 51+ <i>A. radiobacter</i> C7 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> 51+ <i>A. radiobacter</i> C7	20	188.50***	17.57***	16.63*	13.17 ^{NS}	0.96 ^{NS}
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> 51+ <i>A. radiobacter</i> C7 <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> 51 + <i>A. radiobacter</i> C7	40	163.0***	15.50***	14.83**	11.77*	1.12 ^{NS}
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> 51+ <i>A. radiobacter</i> C7+ <i>A. brasilense</i> 54. <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> 51 + <i>A. radiobacter</i> C7 + <i>A. brasilense</i> 54	20	173.37***	16.0***	16.63*	13.47*	0.85 ^{NS}
Inoculation with the consortium of the strains <i>A. radiobacter</i> 51+ <i>A. radiobacter</i> C7+ <i>A. brasilense</i> 54. <i>Inoculation avec le consortium des souches</i> <i>A. radiobacter</i> 51 + <i>A. radiobacter</i> C7 + <i>A. brasilense</i> 54	40	167.87***	15.97***	16.60*	13.80***	1.10 ^{NS}

*** Significant at 0,1 % level / Significatif au seuil de 0,1 %. ** Significant at 1 % level / Significatif au seuil de 1 %. * Significant at 5 % level / Significatif au seuil de 5 %. NS : Not significant / Non significatif.

The analysis of the leaves crop from one tree of mulberry has shown, that in the first year of using fertilizers the real increase is marked in the majority of variants, the maximal parameters are recorded with the use of the strains *A. radiobacter* C7, *A. radiobacter* 51, *A. brasilense* 53, *A. brasilense* 54. The best from strains' mixes was the strains' consortium *A. radiobacter* C7 + *A. radiobacter* 51. In this variant of experience the leaves crop from one tree achieved 1.97 kg which exceeds the control of 79.7 %.

Quantifying an after effect of used fertilizers, it is necessary to say, that the degree of their influence on the leaf crop, in the second year after depositing was a bit lower. The excess over the control changed within the limits of 39.6-53.6 %, and the reliable difference between the control and the experimental versions is marked only in the experiments with the use of some strains, namely *A. radiobacter* 53, *A. radiobacter* 51, *A. brasilense* 54.

CONCLUSION

The analysis of the investigations allows to draw a conclusion that the strains of micro-organisms selected from the nodules of mulberry effectively influence the main biological parameters of the young hybrid mulberry plantations. The strains of *Agrobacterium radiobacter* 51, *A. radiobacter* C7, *Azospirillum brasilense* 53, *A. brasilense* 54 and consortium *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* C7 are the most promising in this direction. The application of bacterial fertilizers on the base of these nitrogen-fixing strains provides the increase in productivity of mulberry leaf of 40-80 % during two years.

REFERENCES

- ALAKSAYCHANKA L.P. (1999) Investigation of fertilizer's remedy action on increase of productivity of not pruned mulberry. Sericulture, Vol. 22, P. 18-20. (In Russian).
- BAGYARAI D.I., TILAR K.V. (1997) Progress in the development of biofertilizers and their application. New Delhi. Vol. 1, P. 211-222.
- DOSPECHOV B.A. (1972) Planning of field experiences and statistical processing of their data, Moscow, 152 p. (In Russian).
- MANGUIAT I. I., MENDOZA D. M., TILO S. N. (1985), Influence of the legume – *Rhizobia symbiosis* of the nitrogen economy of a legume – based cropping system. Philipp. Agriculturist. Vol. 68. a 1, P. 44-55.
- NADKARNICHNAYA A.V. *et al.* (2002) Nitrogenfixing bacteria from the genus *Azospirillum*, allocated from nodules on roots of a mulberry. Materials of the international conference "Microbiology and biotechnology of XXI century", Minsk, P. 57-59. (In Russian).
- PILIPENKO B.F., YEZERSKAYA N. V., SHEKERA B. A. (1992) Elucidation of the causes affecting the sharp increase of mulberry-tree growth rate. Materials of international symposium "Topical problems of the world sericulture", Kharkov, P. 125-126. (In Russian).
- PILIPENKO B.F., YEZERSKAYA N.V. (1993) To the question on properties of nodules bacteria's allocated from roots of a mulberry. Materials of research conference "Problem questions of sericultural development", Kharkov, P. 30-33. (In Russian).
- PILIPENKO *et al.* (1996). Investigation of nitrogenfixing abilities of nodules on roots of a mulberry. Sericulture. Vol. 21, P. 110-114. (In Ukrainian).
- PILIPENKO *et al.* (1998) Nitrogenfixing nodules on roots of a mulberry, Sofia, P. 7-9. (In Russian).
- WICHMANN W. (1983) La fertilisation biologique azotée – une solution de rechange à la fertilisation minérale. BASF informations agricoles, P. 14-17.

AUGMENTATION DE LA PRODUCTIVITE DANS LES PLANTATIONS DE MURIER EN UTILISANT DES ENGRAIS BIOLOGIQUES

N. A. ALEYKSEYCHENKO, A. V. GALANOVA, P. P. ANANYEV¹,
E. V. NADKERNICHNAYA, Y. A. GONCHAR²

1. The Institute for Sericulture of the Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Merefa, 62472
Kharkov provinces, Ukraine.

2. The Institute for Agricultural Microbiology 14027 Chernigov, Ukraine.

*Nous avons étudié l'influence des engrais bactériens, fabriqués en fonction des souches de bactéries que nous avons sélectionnées sur les nodules de racines de mûrier. L'introduction de souches actives de diazotrophes dans la zone de la racine des jeunes plants de mûrier permet l'augmentation des récoltes de feuilles de l'ordre de 39 à 80 % en deux ans. Les recherches ont montré que les plus efficaces des six souches, sélectionnées sur les nodules qui se forment spontanément sur les racines du plant de mûrier et qui se distinguent par leur croissance intense, sont les souches d'*Agrobacterium radiobacter* 51, d'*Agrobacterium radiobacter* C-7, d'*Azospirillum brasilense* 53, d'*Azospirillum brasilense* 54 et de leur mélanges.*

INTRODUCTION

L'une des méthodes efficaces pour augmenter la productivité des cultures agricoles est l'utilisation d'engrais microbiologiques créés à partir de souches actives de micro-organismes qui fixent l'azote et permettent l'accumulation de l'azote biologique dans le sol, la baisse des dépenses en engrais azotés et l'amélioration des conditions écologiques. Les travaux d'auteurs étrangers (Bagyarai et Tilar (1997), Wichmann (1983), Manguiat et coll., (1985) ont aussi montré la nécessité d'étendre les applications et les perspectives dans cette direction, en raison de l'efficacité élevée et de l'absence de risques de cette méthode sur le plan écologique.

Grâce au phénomène de paranodulation sur les racines du plant de mûrier et son lien avec l'augmentation rapide de la productivité du plant et à l'activité élevée de fixation de l'azote des souches sélectionnées sur les nodules de mûrier, nous avons pu appliquer des engrais biologiques pour augmenter la productivité des plants dans une autre branche de la production agricole – la culture du mûrier (Pilipenko et coll., (1992), Pilipenko et Yezerskaya, (1993).

Six souches de bactéries appartenant au genre *Agrobacterium*, *Azospirillum* et *Alkaligenes*, qui ont la capacité de fixer l'azote moléculaire jusqu'à un certain degré (Pilipenko et coll., (1996), Nadkarnichnaya et coll., (2002) ont été sélectionnées sur les nodules de mûrier. L'analyse de l'influence des engrais bactériens créés à partir des souches d'*Agrobacterium radiobacter* 51 et d'*A. radiobacter* C-7 et aussi des souches d'*Azospirillum brasilense* 53 et d'*A. brasilense* 54 montre les capacités variées des diazotrophes à interagir avec les diverses variétés de mûrier (Pilipenko et coll., (1998), Alekseychenko et Pilipenko (1999). On a prouvé qu'en utilisant ces moyens l'augmentation de la récolte de mûrier est en moyenne de 14,6 à 67,9 % en fonction des variétés de plants utilisés pour l'expérience.

Le but de nos études est d'analyser l'influence des souches sélectionnées à partir des nodules de mûrier sur la productivité de jeunes plantations de mûrier hybrides et sur les paramètres structuraux de récolte des feuilles au cours de la première et de la deuxième année d'utilisation des engrais bactériens.

MATERIELS ET METHODES

Les études sont entreprises à l'Institut de Sericulture de l'*Ukrainian Academy of Agrarian Sciences* grâce à des expériences sur le terrain dans des plantations de 4 ans de l'hybride à fourrage (Kharkovskaya 3 × Ukrainskaya 1).

On fabrique les engrais bactériens dans le laboratoire de l'*Institute for Agricultural Microbiology*. On sélectionne les souches de bactéries sur une culture propre de nodules de mûrier, on les identifie et on choisit la forme d'engrais biologique la plus efficace en fonction des souches observées pour arroser les plants de mûrier. On utilise les souches d'*Azospirillum brasilense* 53, d'*A. brasilense* 54, d'*A. brasilense* 61, d'*Agrobacterium radiobacter* 51, d'*A. radiobacter* C7, d'*Alcaligenes paradoxus* 5, leurs mélanges ou leurs regroupements pour l'inoculation des plantations hybrides.

On cultive les souches observées sur un milieu fluide à base de pois pour obtenir la culture de travail en agitant constamment pendant 48 heures à une température de 28 – 30° C. On inocule la tourbe stérile en paquets en lui injectant de la culture liquide et en s'assurant que l'humidité de la drogue est de 55 à 60 %. On place ensuite les paquets à une température de 28° C pendant 7 à 10 jours. Le titre est de 2 à 4 milliards de cellules pour un gramme de remède.

On procède à l'inoculation des plants de mûrier en introduisant les souches de bactéries fixant l'azote dans la zone de la racine des plants tout en les arrosant. A cet effet, on place une quantité d'engrais bactérien de 300 à 600 g pour 10 l d'eau dans des sillons des deux côtés sous les plants de mûrier au taux de 20 à 40 g par plante. Pour le témoin, on utilise des plants hybrides du même âge, que l'on arrose avec la même quantité d'eau et de la tourbe stérile. On procède aux expériences sur des plantations de jeunes mûriers hybrides (âgés de 4 ans), taillées en été. La hauteur des troncs de mûrier est de 0,60 à 0,70 cm, le mode de plantation des arbres est de 3 × 0,5 m.

On analyse les données expérimentales en utilisant les méthodes statistiques et l'analyse dispersive (Dospechov, 1972).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse des résultats obtenus montre que l'application d'engrais biologiques provenant de souches de bactéries fixant l'azote, sélectionnées sur les nodules de racines de mûrier, influence assez efficacement la croissance et le développement des plants de jeunes mûriers hybrides (Tableaux I, II). Au cours de l'année d'utilisation des engrais, on obtient l'influence la plus importante sur la longueur des pousses de mûrier avec le mélange de souches *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* C7 et *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* C7 + *A. brasilense* 54, sous l'action desquelles la longueur des souches atteint 178,6 – 188,4 cm, ce qui dépasse le témoin de 16 à 23 %. Dans les variantes de l'expérience, quand on fait entrer dans le sol des souches séparées, on obtient l'augmentation maximum de la longueur des pousses (de 173,2 à 176,3 cm) avec *A. radiobacter* 51, *A. radiobacter* C7 et *A. brasilense* 53. On remarque aussi l'influence essentielle des engrais bactériens sur l'augmentation des paramètres de la surface foliaire.

L'analyse de la récolte de feuilles obtenue avec un arbre montre que pendant la première année d'utilisation des engrais il se produit une augmentation réelle avec la plupart des variantes, on enregistre les paramètres maximaux avec l'utilisation des souches *A. radiobacter* C7, *A. radiobacter* 51, *A. brasilense* 53, *A. brasilense* 54. Le meilleur mélange de souches est le mélange *A. radiobacter* C7 + *A. radiobacter* 51. Dans les variantes de cette expérience, la récolte de feuilles à partir d'un arbre atteint 1,97 kg, ce qui dépasse le témoin de 79,7 %.

Lors de la quantification de l'effet secondaire des engrais utilisés, il est nécessaire de préciser que le degré de leur influence varie par rapport à la récolte de feuilles et qu'il est un peu plus faible au cours de la deuxième année après le dépôt. L'amélioration par rapport au témoin passe de 39,6 à 53,6 % et la différence fiable entre le témoin et les versions expérimentales n'est marquée que dans les expériences avec l'utilisation de certaines souches à savoir *A. radiobacter* 53, *A. radiobacter* 51, *A. brasilense* 54.

CONCLUSION

L'analyse des observations permet de conclure que les souches des micro-organismes sélectionnées sur les nodules du mûrier influencent efficacement les principaux paramètres biologiques des jeunes plantations de mûriers hybrides. Les souches *Agrobacterium radiobacter* 51, *A. radiobacter* C7, *Azospirillum brasilense* 53, *A. brasilense* 54 et l'ensemble *A. radiobacter* 51 + *A. radiobacter* sont les plus prometteuses. L'application des engrais bactériens provenant de ces souches fixant l'azote permet une augmentation de la productivité en feuilles de mûrier de l'ordre de 40 à 80 % sur deux ans.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	399
General sericulture	
Mûrier	403
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	407
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	413
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	415
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	419
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : œufs, embryologie	423
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes.	425
Silkworms: silk glands	
Soie	427
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

Impact of Tot Programmes on Crop Productivity under Doon Valley Conditions

BABULAL, SIDDIQUI A.A., KHATRI R.K., SHARMA A.K., ALOK GAUTAM and VINAY KUMAR

Zonal Silkworm Seed Production Organisation, Dehradun, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 17-19. (E)

How to Modify Conventional Rearing Stands to Shoot Rearing Stands ?

BHAT D.V.

P2 BSK, Yelagiri Hills, Andhra Pradesh, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(2), 12. (E)

Contribution of SKUAST (K) in transfer of sericulture technology

DAR H.U., MALIK M.A., SOFI A.M., MALIK G.N., SINGH T.P. and TANTRAY A.M.

Division of Sericulture, Mirgund, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 10. (E)

Sericulture Cluster - A Forward Thinking

DAYAKAR YADAV B.R.

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

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 11-13. (E)

Research Achievements of CSB Institutes During IX Five Year Plan : Highlights - Part II

DAYAKAR YADAV B.R.

Central Silk Board, Ministry of Textiles, Govt of India, P.B. n 6825, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 11-14. (E)

Research Achievements of CSB Institutes During IX Five Year Plan : Highlights - Part I

DAYAKAR YADAV B.R.

Central Silk Board, Ministry of Textiles, Govt of India, P.B. n 6825, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(2), 9-11. (E)

Research achievements of CSB intitutes during IX five year plan : highlights - part III

DAYAKAR YADAV B.R.

Central Silk Board, Bangalore, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 7-9. (E)

Prospects of Eri Culture in Maharashtra

JADHAV A.D., HAJARE T.N., PRASAD J. and RODE S.A.
Directorate of Sericulture, Govt. of Maharashtra, Nagpur, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 15-16. (E)

Scope for Vermi-compost in Sericulture in north-west India

JUYAL A.C., CHAKRABARTI S. and MOHAN R.
RSRS, Sahaspur, Dehradun, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 13-14. (E)

Silk Mark Scheme - A Curtain Raiser

KOSHY T.D.
Central Silk Board Complex), BTM Layout, Bangalore 560 068, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 5-7. (E)

Eri culture in Andhra Pradesh : an initiative

KRISHNA RAO J.V. and TEOTIA R.S.
Central Silk Board, Bangalore, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 4-6.(E)

National Workshop on Sericulture

KUMAR SINHA R.
Central Silk Board, Bangalore, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 18-20. (E)

Eri Culture and the Young Entrepreneurs

KUMAR SINHA R.
Central Silk Board, P.B.n 6825, CSB Complex, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 19-21. (E)

Measuring the Preference Level of Sericultural Innovations with Paired Comparison Technique

MADHU PRASAD V.L., KATTEPPA Y. and MUNISWAMAPPA M.V.
Sericultural College, Chintamani 563 125, India.
2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 115-117. (E)

Diversification of Natural Waste into Dyestuff for Textile Material

MAHALE G., VANISHREE S. and SUNANDA R.K.
Department of Textiles and Clothing, College of Rural Home Science, UAS, Dharwad, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 29. (E)

Consumption Pattern of Silk Goods : An Analysis of Per Capita Purchase

NADIGER G.S. and MURALIDHARA K.S.
Textiles Committee, Mumbai, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(2), 20-22. (E)

Sericulture and Floriculture - A Novel Blend

NAIK A.T.
Kiran Floritech, Modge village, Balekundri P.O., Belgaum district, Karnataka, India.
2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 16-17. (E)

Evaluation of bivoltine training programme for extension workers of south India

RAHMATHULLA V.K., GEETHA DEVI R.G. and SREENIVASA G.
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008, India.
2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 137-141. (E)

Seminar on "Improvement of Cocoon Quality for Quality Silk Yarn"

RAJESH KUMAR SINHA

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

2004 Indian Silk, Vol. 43(7), 21-22. (E)

Perception Level of Seed Rearers in Multivoltine Seed Area of Andhra Pradesh

RAMANJANEYULU Y.V., DODDANARASIAH, BHARGAVA S.K., ANGADI B.S. and KAMBLE C.K.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Central Silk Board, BTM Layout, Hosur Road, Madivala, Bangalore - 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(7), 11-13. (E)

ISO Certification : Standardizing Seed Quality

RAMESHA M.N.

2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 26. (E)

South India : The new abode of Eri !

RAMESHA M.N.

Editor, Central Silk Board, BTM Layout, Madivala, Bangalore - 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 27-28. (E)

Post-cocoon Technology : The Transition

SONWALKAR T.N.

Central Silk Technological Research Institute, CSB Complex, BTM Layout, Hosur Road, Madivala, Bangalore - 560 068, India

2004 Indian Silk, Vol. 43(7), 14-19. (E)

Sericulture Brings Back Smile

SRIPRAKASH N. and SHETTY K.K.

Central Silk Board, Ministry of Textiles, Govt. of India, P.B. n 6825, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 17-18. (E)

Breeding of Disease Resistant Silkworm : Problems and Prospects

SUDHAKARA RAO P., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SELVA KUMAR T. and DANDIN

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

2004 Indian Silk, Vol. 43(7), 8-10. (E)

Impact of Mountages and Larval Density on Cocoon Quality and Egg Production

VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M., MANJULA A. and KAMBLE C.K.

Silkworm Seed Technology Laboratory, CSB, Kodathi, Bangalore - 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 14-16. (E)

Quality Inspection and Evaluation on Trade Criterion of the Hybrid Variety Silkworm Eggs Throught Country. III. General Quality and Evaluation of Practical Hatchability, Hybrid Rate, Sick Eggs Rate

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

Ministry of Agriculture ; Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agri. Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 312-318. (C,e)

Analysis on the Contribution Rate of Key Elements of Cocoon Production Increases in Shandong Province

WANG Y., WU X., MU Z., SONG X. and HAO J.

Department of Sericulture, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China.

2004 CANYE KEXUE, *Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 334-337. (C,e)

Construction of Database for Silkworm Germplasm Resource

ZHANG Y., XU A., LI M., HOU C. and SUN P.

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

2004 CANYE KEXUE, *Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 296-299. (C,e)

Mûrier

Mulberry

Seasonal incidence of major foliar fungal diseases of mulberry in north east India.

CHAKRAVORTY R., NEOG K., DAS R. and DUTTA P.K.

Centre for Integrated Sericulture Research, Jorhat 785 005, Assam, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 122-127. (E)

Study on the Transpiration in Mulberry and its Relationship With Climate Factors

CHENG J., WANG Y., WANG N., WU F. and ZHANG X.

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

2004 Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue, Vol. 30(2), 123-128. (C,e)

Effect of sewage water irrigation on biology and fertility of a mulberry garden soil of Mysore

DAS P.K., DEBASISH SAHA, KATIYAR R.S., RAJANNA L. and DANDIN S.B.

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

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 178-182. (E)

Studies on the effect of sewage water irrigation on growth, yield and quality of mulberry (*morus indica* L.)

DEBASISH SAHA, DAS P.K., THIPPESWAMY T., BABU C.M., RAMASWAMY G.N. and RAJANNA L.

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

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 174-177. (E)

Antioxidant role of mulberry leaves in streptozotocin-diabetic rats

HU M.L. and WANG R.J.

2004 Clin Chim Acta., Vol. 348(1-2), author reply 217-218. (E)

Effect of Water Stress on Physiological and Biochemical Character of Mulberry

JI X., GAI Y., MU Z., LIU X. and WANG H.

Department of Sericulture, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China.

2004 Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue, Vol. 30(2), 117-122. (C,e)

Tissue culture and morphogenic studies in mulberry : An overview

KHURANA P., BHATNAGAR S. and KUMARI S.

Department of Plant Molecular Biology, University of Delhi South Campus, New Delhi 110 021, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 93-110. (E)

Hypoglycemic Effect of Polysaccharide in Mulberry Tea on Normal and Diabetic Mice

LIAO S., ZOU Y., ZHENG X., CHEN W., LIU X., XU Y. and ZHANG Y.

The Sericulture & Farm Product Processing Research Instit. of Guangdong Academy of Agric. Sci., Guangzhou 510610, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 327-329. (C,e)

Transducing GUS Gene Into Mulberry Seedling by Plant Transformation Technique

LU X., LOU C., WANG B. and MINEO K.

Department of Sericulture and Apiculture, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 129-132. (C,e)

Assessment of Disease Incidence in Mulberry

MAJI M.D.

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, West Bengal, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(3), 17-19. (E)

Damping-off Disease in Mulberry Seedlings and Its Management

NISHITA NAIK V., SHARMA D.D., CHOWDARY N.B. and MALA V.R.

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

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 201-205. (E)

Character Association Pattern and Path Analysis in Mulberry (*Morus spp.*)

PUTTARAMA NAIK, RANGAIAH S. and PRAKASH B.G.

Department of Genetics and Plant Breeding, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(2), 163-166. (E)

Tender Leaf Black Spot Helps Early Detection of Tukra

RAJAGOPAL REDDY C., MISRA S., SIVAPRASAD V. *et al.*

APSSRDI, Kirikera, Hindupur, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(5), 22. (E)

Thriving of Mulberry in Sodic Land of Uttar Pradesh

RAJAT MOHAN, CHAKRAVARTI S., NARAYANAN P., KAMAL JAISWAL, SINGH B.D. and KHAN M.A.

Regional Sericultural Research Station, Sahaspur, Dehradun, India.

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(7), 5-7. (E)

Plant parasitic nematodes, a serious threat to mulberry - A review

RAMAKRISHNAN S. and SENTHILKUMAR T.

Dept of Nematology, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore 641 003, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 82-92. (E)

Biological Control of Mulberry Root Knot Nematode *Meloidogyne incognita* by *Trichoderma harzianum*

SUKUMAR J., PADMA S.D. and BONGALE U.D.

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

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 175-179. (E)

Passage Analysis of Mulberry Leaf Yield Properties in Autumn

SUN R., LIANG M., DU J., WANG Z., GONG L. and WANG X.

The Sericultural Research Institute of Shandong Province, Yantai 264002, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 199-203. (C,e)**Development of the Model TS160 Spin-drier for Mulberry Leaves**

TAN H., MENG F., LIAO M., LONG T., LI F., YAO D. and LIN G.

Sericultural Research Institute of Hunan Province, Lixian 415500, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 330-333. (C,e)**Incidence of *Oecophylla smaragdina* (Fabricius) (Hymenoptera : Formicidae) on mulberry (*Morus* species)**

TIKADER A. and THANGAVELU K.

Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur 635 109, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 186-187. (E)**Analysis of phylogenetic relationship among five mulberry (*Morus*) species using molecular markers**

VIJAYAN K., SRIVASTAVA P.P. and AWASTHI A.K.

2004 *Genome.*, Vol. 47(3), 439-448. (E)**Effect of Covering Straw on Some Properties of Mulberry Soil Fertility With Long-term No-tillage**

WANG B., DING Y., ZHOU Y., LI Q., YE G. and ZHANG G.

School of Agricultural Science and Technology, Soochow University, Suzou 215006, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 195-198. (C,e)**Cloning and Sequencing of Phytoplasma 16S rRNA Gene From Infected Mulberry in China**

XIA Z. and NANBA S.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212108, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 204-206. (C,e)**Breeding of New Artificial Triploid Mulberry Variety Jialing 20**

YU M., JIN C., WU C. and LU C.

College of Sericulture and Biotechnology of Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 225-229. (C,e)**Studies on the Natural Dyestuff Extracted From Mulberry Leaf and it's Stability**

ZHANG G., DENG Y., LING G. and ZHANG Y.

College of Sericulture and Biotechnology of Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 323-326. (C,e)**The Effect of Salt Stress on the Germination of Seed and Physiological Characteristics of Seedling in Mulberry**

ZHANG G., TAN J. and LIU M.

School of Agricultural Science and Technology, Soochow University, Suzhou 215006, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 191-194. (C,e)**A Method for Extraction of RNA From Mulberry**ZHAO W. *et al.*

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

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 224. (C)

Bombyx mori : élevage, nutrition, pathologie

Bombyx mori : rearing, feeding, pathology

Pheophytin Content and Cytotoxicity of Silkworm Feces Against Jurkat Cells According to Dry Method and Storage Period.

AHN M.Y., KIM I., RYU K.S., KIM J.W., LEE H.S. and LEE P.J.

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon 441-100, Korea.

2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 135-138. (E)

Sex-limited Bivoltine Breed "NANDI" - A boon for cross breed egg production

BASAVARAJA H.K., DANDIN S.B., MAL REDDY N., SURESH KUMAR N., KALPANA G.V. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(4), 23-26. (E)

A Successful Model of Commercial Chawki Rearing and its Impact

BENCHAMIN K.V., VIJAYA KUMAR H.V., DASAPPA, KALAPPA H.K. and DWARAKINATH
National Silkworm Seed Project, CSB Complex, BTM Layout, Hosur Road, Madivala, Bangalore - 560 068, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 5-10. (E)

Breeding of the New Silkworm Variety Qiuju x Xin 6 for Autumn Rearing

CAO J., YE A., ZHU X. and WU H.

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

2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 304-307. (C,e)

Development of Improved Mountages

CHANDRAKANTH K.S., SRINIVASA BABU G.K., DANDIN S.B. *et al.*

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore.

2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 7-12. (E)

Quality Upgradation of Biboltine Cocoons

DANDIN S.B.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(5), 23-25. (E)

Use of CSR Breeds with Pure Mysore for Higher Productivity

DANDIN S.B., MAL REDDY N., BASAVARAJA H.K., SURESH KUMAR N. *et al.*

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 8-10. (E)

Different Aspects of Mulberry Leaves Supplementation with Various Nutritional Compounds in Sericulture

ETEBARI K., KALI WAL B.B. and MATINDOOST L.

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

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 15-28. (E)

GalNac pretreatment inhibits trapping of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac on the peritrophic membrane of *Bombyx mori*

HAYAKAWA T., SHITOMI Y., MIYAMOTO K. and HORI H.

Graduate School of Science and Technology, Niigata University, Niigata 950-2181, Japan.

2004 *FEBS Lett.*, Vol. 576(3), 331-335. (E)

Impact of Low Concentration Fluoride on Toxification and Biological Traits of Silkworm, *Bombyx mori*

HOSAGOUDAR S.R., YUIN C., YUANXIANG J. and MANJUNATHA H.B.

Department of Sericulture, Karnatak University, Dharwad 580003, Karnataka, India.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 73-78. (E)

Comparative Study on Spore Surface Proteins of Two Microsporidia and Their Infectivity to Silkworm *Bombyx mori*

HUANG S., LU X., WANG F., JIN W. and CHEN S.

Invertebrate Pathology Lab, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 157-163. (C,e)

Silkworm body and bed disinfectants

ILLAHI I. and KHAN M.A.

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

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(4), 11-15. (E)

Use of Molecular Tools for Discrimination of *Nosema* and Other Microsporidians

IYENGAR M.N.S.

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

2004 *Indian Silk*, Vol. 43(7), 20-30. (E)

Effect of plant extracts on nutritional efficiency in mulberry silkworm *Bombyx mori* L.

JEYAPPAUL C., PADMALATHA C., RANJIT SINGH A.J.A., MURUGESAN A.G. and DHASARATHAN

Department of Biology, Sri Paramakalyani College, Alwarkurichi 627 412, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 128-131. (E)

Effect of *Bacillus thuringiensis* Strain YJ-2000 on Common Biological Characters of the Domestic Silkworm, *Bombyx mori*

JIANG C., YAO H., YE G. and HU C.

Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 171-175. (C,e)

Cocoon and Post-Cocoon Parameters of Silkworm, *Bombyx mori* L. as Influenced by Foliar Spray of Daman Penshibao

JYOTHI B.L., GOVINDAN R., SANNAPPA B., BHASKAR R.N. and VISHWANATH A.P.

Department of Sericulture, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(1), 51-55. (E)

Breeding of a New Silkworm Variety, Kumhwangjam, with a Sex-Limited Cocoon Color for Spring Rearing Season

KANG P.D., SOHN B.H., LEE S.U., KIM M.J., JUNG I.Y., KIM Y.S. *et al.*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 89-93. (E)

Digestibility in the newly developed bivoltine hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L.

KANIKA TRIVEDY, SASHINDRAN NAIR K. and NASSEMA BEGUM A.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 142-145. (E)

New semi-synthetic diet, "Nutrid" - A technology for rearing young-instar silkworm in India

KANIKA TRIVEDY, SASHINDRAN NAIR K., RAMESH M., GOPAL N. and NIRMAL KUMAR S.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 158-161. (E)

Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in the silkworm, *Bombyx mori* L.

KHURAD A.M., MAHULIKAR A., RATHOD M.K., RAI M.M., KANGINAKUDRU S. and NAGARAJU J

Department of Zoology, Nagpur University Campus, Nagpur-440 033, India.

2004 *J. Invertebr. Pathol.* Vol. 87(1), 8-15. (E)

Development of an automatic hemolymph collection system from silkworm larvae -

Development of a feeder for silkworm larvae and improvement of a holding implement -
KOBAYASHI T.

National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Ohwashi, 1-2, Ibaraki 305-8634, Japan.

2004 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 73(1), 37-42. (J,e)

Establishment of the National Standard of Mulberry Seed and Sapling

LIU L., PAN Y., LI Y. and CHENG J.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 285-289. (C,e)

Isolation and Identification of An Antagonistic Bacteria Strain Against Silkworm Pathogens

LIU X., SUN C., MA Y., WANG C. and LIU K.

The Forest College, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 273-276. (C,e)

Breeding of Productive Bivoltine Hybrid, CSR16xCSR17 of Silkworm *Bombyx mori* L.

MAL REDDY N., BASAVARAJA H.K., SURESH KUMAR N., JOGE P.G., KALPANA G.V *et al.*

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

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 129-133. (E)

Silkworm (*Bombyx mori*) Response to Differently Formulated Artificial Diets

MOTTAGHITLAB M. and POURALI M.

Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Guilan, P.O. Box 41635-1314, Rasht, Iran.

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 207-210. (E)

Prevention of Diapause in Bivoltine Eggs of the Silkworm, *Bombyx mori* L., through a Cross with the Race KS-10 as Male Parent

MUNDKUR R., MURTHY M., MAHADEVAPPA, RAGHURAMAN R. and BONGALE U.D.

Karnataka State Sericulture Research and Devpt Instit., Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, India.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 107-109. (E)

Evaluation of New Commercial F1 Hybrids of Silkworm (*Bombyx mori* L.) with Participation of Sex-limited Lines

PETKOV N., PETKOV Z., GREKOV D. and ARNAUDOVA K.

Regional Centre for Scientific-Applied Service, Vratza-3000, Bulgaria.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 47-51. (E)

Evaluation of Relative Fluoride Toxicity and Its Impact on Growth, Economic Characters and Fecundity of the Silkworm, *Bombyx mori* L.

RAMAKRISHNA S., SURENDRA NATH B. and JAYAPRAKASH

Department of Zoology, Bangalore University, Bangalore 560 056, India.

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 151-159. (E)

Evaluation of Polyvoltine Hybrids Based on Silk Productivity in Silkworm, *Bombyx mori* L.

RAO C.G.P., CHANDRASHEKARAIAH, RAMESH C., BASHA K.I., SESHAGIRI S.V. and NAGARAJU

Andhra Pradesh State Sericulture Research and Development Institute, Kirikera 515 211, Hindupur (A.P.), India.

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 181-187. (E)

Expression of a Recombinant *Bacillus thuringiensis* delta-Endotoxin Fused with Enhanced Green Fluorescent Protein in *Escherichia coli*

ROH J.Y., LI M.S., CHANG J.H., SHIM H.J., JIN B.R., BOO K.S. and JE Y.H.

School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea.

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 145-149. (E)

***Trogoderma* sp. (Coleoptera : Dermestidae), a new record of stored silk cocoon pest of mulberry silkworm *Bombyx mori* L.**

SAHAF K.A. and MUNSHI N.A.

Division of Sericulture, S. K. Univ. of Agric. Sciences and Technology, Mirgund, P.B.n 674, GPO Sringer 190 001, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 169-170. (E)

Influence on Nitrogen Levels, Method and Frequency of Feeding Silkworm, *Bombyx mori* L. on Cocoon and Post-Cocoon Traits

SANNAPPA B., DEVAIAH M.C. and GOVINDAN R.

Department of Sericulture, College of Agriculture, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(1), 4-10. (E)

Influence of Varied Levels of Nitrogen Applied to Rainfed Mulberry on Larval Traits and Cocoon Yield of *Bombyx mori* L.

SANNAPPA B., DEVAIAH M.C. and GOVINDAN R.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(1), 109-112. (E)

Economics of Mulberry Cocoon Production as Influenced by Nitrogen Levels and Feeding Methods and Regimes

SANNAPPA B., DEVAIAH M.C. and GOVINDAN R.

Department of Sericulture, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(2), 201-207. (E)

Study on the Technique for Terminating the Diapause of Silkworm, *Bombyx mori*, Eggs Immediately

SHAO J., LIN J., LIAO F., NI H. and HUO Y.

Department of Silk Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 308-311. (C,e)

Design of Computer Program for Diagnosing Silkworm Diseases

SONG H., LU X. and SHEN H.

Department of Agricultural Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 164-170. (C,e)

Production Practices, Management Strategies and Constraints Adopted by Multivoltine Rearers for Seed Cocoon Production

SRINIVASA GOWDA R.G., CHINNASWAMY K.P., GOVINDAN R., SANNAPPA B. and RAMESH K.V.

Department of Sericulture, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(1), 95-102. (E)

Analysis of heterosis and combining ability of certain quantitative traits in silkworm *Bombyx mori* L. under different temperature and humidity conditions

SUDHAKARA RAO P., DATTA R.K., BASAVARAJA H.K., REKHA M. and VIJAYAKUMARI K.M.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 152-157. (E)

Heterotic Expression in Silk Productivity of Newly Evolved Thermo-tolerant Bivoltine Hybrids of Silkworm *Bombyx mori* L.

SUDHAKARA RAO P., DATTA R.K., VIJAYA KUMARI K.M. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, India.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 53-58. (E)

Breeding of the Silkworm Races 8212, Xianhui and the Hybrid, Wanxia No. 2 Development

SUN J., LI S., HUANG D., DU J. and LI Q.

Sericultural Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230061, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 300-303. (C,e)

Effect of high temperature and high humidity on the post cocoon parameters of parents, foundation crosses, single and double hybrids of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L.

SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K., NANJE GOWDA B., JOGE P.G. *et al*

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 162-168. (E)

Characteristics of the feeding responses to stimulant compounds in the newly hatched larvae of "polyphagous" strains of the silkworm, *Bombyx mori*

TSUNEYAMA I., IKEJIMA S., IIDA N., TSURUI Y. and TANAKA Y.

Institute of Sericulture, Likura 1053, Ami-machi, Ibaraki, 300-0324, Japan.

2004 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 73(1), 1-7. (J,e)

Relevance of feeding schedule in bivoltine seed crop rearing

VENKATESH H., RAGHURAMAN R. and KATTI S.R.

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

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 146-151. (E)

Evaluation of bivoltine x bivoltine hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L. on V-1 and M-5 mulberry varieties under dharwad conditions

VENKATESHA M. and RAYAR S.G.

Department of Sericulture, College of Agriculture, University of Agricultural Sciences, Dharwad 580 005, India.

2003 *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 42(2), 183-185. (E)

Quality Inspection and Evaluation on Trade Criterion of the Hybrid Variety Silkworm Eggs Through Country. II Investigation and Evaluation on Normally Oviposited Eggs Rate and the Number of Normally Oviposited Eggs Per Unit

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

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

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 211-216. (C,e)

Review on Silkworm (*Bombyx mori*) Sex Control in China

XU A.-Y., LI M.-W., SUN P.-J., ZHANG Y.-H. and HOU C.-X.

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

2004 *Int. Journal of Industrial Entomology*, Vol. 8(2), 123-127. (E)

Effects of 3-amino-1,2,4-triazole and Hydrogen Peroxide on the Diapause Evocation of Silkworm, *Bombyx mori*

ZHAO L.

Life Science School of Soochow University, Suzhou, 215006, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 319-322. (C,e)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Traumatic effect of temperature on *Antheraea assama* Westwood

BORA D.S. and HANDIQUE R.

Department of Life Sciences, Dibrugarh University, Dibrugarh 786 004, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 111-114. (E)

Environmental mycological study and respiratory disease investigation in tussah silk processing workers

CHEN J., SHI J., WANG S., YANG S., LOU J. and LIU Z.

Division of Pneumoconiosis, School of Public Health, China Medical University, Shenyang, P.R. China.

2004 J. Occup Health., Vol. 46(5), 418-422.(E)

Induced immunity in *Antheraea assama* Ww larvae against flacherie causing *Pseudomonas aeruginosa* AC-3

CHOUDHURY A., GUHA A., YADAV A., KUMARI J., UNNI B.G. and ROY M.K.

Biochemistry Division, Regional Research Laboratory, Jorhat 785 006, Assam, India.

2004 Exp Parasitol., Vol. 106(3-4), 75-84. (E)

Seed technology in eri silkmoth-Experimenting with other oviposition devices

DEBARAJ Y., SARMAH M.C. and SURYANARAYANA N.

Regional Eri Research Station, Mendipathar 794 112, Meghalaya, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 118-121. (E)

Breeding Strategies for Terminalia

KUMAR R., GARGI, SINHA B.R.R.P. and RAM KUMAR

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(7), 27-30. (E)

Research on the Expression Law of Dietary Efficiency for Successive Generation in Chinese Oak Silkworm

LIU P. and YANG B.

Sericultural Research Institute of Liaoning Province, Fengcheng 118100, China.

2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 255-259. (C,e)

Genetic Variability in the Natural Populations of Daba Ecorace of Tasar Silkworm (*Antheraea mylitta* Drury), as Revealed by ISSR Markers

MOHANDAS T.P., VIJAYAN K., KAR P.K., AWASTHI A.K. and SARATCHANDRA B.

SeriBiotech Res. Lab., Central Silk Board, Carmelram Post, Bangalore 560035, Karnataka, India

2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 211-215. (E)

Weed flora of som and soalu plantations in Goalpara district of Assam and their phenology

RAHMAN A., BASUMATARY S. and AHMED M.

Department of Sericulture, Government of Assam, Goalpara 783 101, India.

2003 Indian Journal of Sericulture, Vol. 42(2), 132-136. (E)

Nutritional Efficiency in *Antheraea mylitta* D. during Food Deprivation

RATH S.S., SINHA B.R.R.P. and THANGAVELU K.

Central Tasar Research & Training Institute, Piska Nagri-835 303, Ranchi, India.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 111-115. (E)

Conservation of Tasar Eco-race - Modal

ROUT J.K., BOSE A.K., RAMA RAO B. and DASH C.S.

Modal Eco-race Conservation Project, Baripada, Orissa, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 26-28. (E)

***Terminalia* Wood Ash as an Alternate Disinfectant in Tasar Culture**

SAHAY A., ROY D.K., SAHAY D.N., ROY G.C. and SINHA B.R.R.P.

Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(2), 15-16. (E)

Integrated Package of Input Requirement For Tasar Culture

SUBRAT SATPATHY

BSM & TC, Sundargarh, Orissa, India.

2004 Indian Silk, Vol. 43(3), 21-22. (E)

Vers à soie : génétique

Silkworms : genetics

siRNA-directed silencing of transgene expressed in cultured insect cells

AGRAWAL N., MALHOTRA P. and BHATNAGAR R.K.

International Center for Genetic Engineering and Biotechnology, New Delhi 100 067, India.

2004 *Biochem Biophys Res Commun.*, Vol. 320(2), 428-434. (E)

Inheritance of a Body Shape Mutant Named "Short Segment" of the Domesticated Silkworm, *Bombyx mori*

BANNO Y., NISHIKAWA K., NISHISAKA A., TAMURA K., YAMAMOTO K. and FUJII H.

Institute of Genetic Resources, Kyushu University, Hakozaki 6-10-1, Fukuoka, 812-8581, Japan.

2004 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 73(1), 35-37. (E)

Cloning of Adenine Nucleotide Translocase Gene From *Bombyx mori* Based on EST Database

CHEN D., NIU B., WENG H., MENG Z. and LU S.

College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 151-156. (C,e)

The Analysis of Mapping With the Different Size of F2 Population of *Bombyx mori*

CHEN D., SIMA Y., ZHANG L., QIAN M., ZHAO A., LI B., LU C. and XIANG Z.

College of Sericulture and Biotechnology, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 242-248. (C,e)

Conservation of Multivoltine Silkworm (*Bombyx mori* L.) Germplasm in India - An Overview

KUMARESAN P., SINHA R.K., MOHAN B. and THANGAVELU K.

Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur 635 109, Tamil Nadu, India.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 1-13. (E)

Molecular cloning and characterization of the translationally controlled tumor protein gene in *Bombyx mori*

LEE J.M., KUSAKABE T., KAWAGUCHI Y., MIYAGAWA Y., TAKAHASHI M., MON H. *et al.*

Kyushu University Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Hakozaki 6-10-1, Fukuoka 812-8581, Japan

2004 *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem Mol. Biol.*, Vol. 139(1), 35-43. (E)

Comparative Analysis of Genetic Polymorphism of Silkworm (*Bombyx mori*) and Wild Mulberry Silkworm (*Bombyx mandarina*)

LIU L., PAN M., DAI F., YU H. and LU C.

College of Sericulture and Biotech. of Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2004 *CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 237-241. (C,e)

In vivo DNA double-strand breaks enhance gene targeting in cultured silkworm cells

MON H., KUSAKABE T., LEE J.M., KAWAGUCHI Y. and KOGA K.

Kyushu Univ Graduate School of Bioresource & Bioenvironmental Sciences, 6-10-1 Hakozaki, Fukuoka 812-8581, Japan.

2004 Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, Vol. 139(1), 99-106. (E)**Phylogenetic relationship of three new microsporidian isolates from the silkworm, *Bombyx mori***

NAGESWARA RAO S., MUTHULAKSHMI M., KANGINAKUDRU S. and NAGARAJU J.

Lab of Molecular Genetics, Centre for DNA Fingerprinting and Diagnostics, ECIL Road, Nacharam, Hyderabad, 500 076, India

2004 J Invertebr Pathol., Vol. 86(3), 87-95. (E)**Induction of Genomic DNA Fragmentation by Introduction of the BmTRN-1 RNA-Binding Domain into Cultured Cells of the Silkworm, *Bombyx mori***

OHBA T., SAITO H., SUGIMURA Y., FURUSAWA T., HAYASHI Y. and KOTANI E.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606-0962, Japan.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 57-60. (E)**Resistance to *Bombyx mori* Densonucleosis Virus Type 1 and Its Inheritance in Silkworm, *Bombyx mori* L.**SEN R., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., PREMALATHA V. *et al.*

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

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 35-40. (E)**Development and Genetic Diversity Analysis of Microsatellite Markers in Silkworm, *Bombyx mori* L.**

SHEN Li, LI Muwang, LI Minghui, MIAO X., LU C. and HUANG Y.

Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China.

2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 230-236. (C,e)**A Comparison of Location of QTLs Controlling Cocoon Traits of Silkworm With Different Number of Markers**

SIMA Y., LI B., CHEN D., XU H., ZHANG L., SUN D., LU C. and XIANG Z.

College of Sericulture and Biotechnology, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.

2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 249-254. (C,e)**Development of a Polyvoltine Breed - BL67 (Pg) of the Silkworm, *Bombyx mori* L. with Parthenogenetic Origin**SINGH R., RAGHAVENDRA RAO D., GANGOPADHYAY D., CHOUDHARY N. *et al.*

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

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 41-46. (E)**The basis for colorless hemolymph and cocoons in the Y-gene recessive *Bombyx mori* mutants : a defect in the cellular uptake of carotenoids**TSUCHIDA K., KATAGIRI C., TANAKA Y., TABUNOKI H., SATO R. *et al.*

Division of Radiological Protection, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

2004 J. Insect Physiol., Vol. 50(10), 975-983. (E)**Genetic analysis of Indian mulberry varieties through molecular markers**

VIJAYAN K., AWASTHI A.K., SRIVASTAVA P.P. and SARATCHANDRA B.

Seri-Biotech Research Laboratory, CSB Campus, Carmelram, Kodathi, Bangalore, Karnataka, India.

2004 Hereditas, Vol. 141(1), 8-14. (E)

Molecular Cloning of a Profilin cDNA from *Bombyx mori*

WEI Y., GUI Z., CHOI Y.S., GUO X., ZHANG G., SOHN H.D. and JIN B.R.
College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea.
2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 123-126. (E)

An innovative technique for inoculating recombinant baculovirus into the silkworm *Bombyx mori* using lipofectin

WU X., CAO C., KUMAR V.S. and CUI W.
College of Animal Sciences, Zhejiang University, Huajiachi Campus, Hangzhou 310029, PR China.
2004 Res Microbiol., Vol. 155(6), 462-466. (E)

Screening and Cloning of RAPD Markers from the W Chromosome of Silkworm, *Bombyx mori* L.

ZHANG C., YAO Q., XU Q., TANG X. and CHEN K.
Institute of Life Sciences, Jiangsu University, 301 Xuefu Road, Zhenjiang 212013, P.R. China.
2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 161-167. (E)

Identification of 6 *Bombyx mori* Varieties Using AFLP Molecular Markers

ZHANG J., ZHONG B., DING N., WU W. and ZHAO L.
Lab. of Molecular Biology of Silkworm and Honeybee, College of Animal Sciences, Zhejiang Univ., Hangzhou 310029, China.
2004 Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue, Vol. 30(2), 137-142. (C,e)

Construction of AFLP molecular markers linkage map and localization of green cocoon gene in silkworm (*Bombyx mori*)

ZHAO A.C., LU C., LI B., PU X.Y., ZHOU Z.Y. and XIANG Z.H.
Sericulture and Biotechnology Department Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China.
2004 Yi Chuan Xue Bao., Vol. 31(8), 787-794. (E)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Type-A allatostatins from the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* : molecular cloning, expression and tissue-specific localization

ABDEL-LATIEF M., MEYERLING-VOS M. and HOFFMANN K.H.

Department of Animal Ecology I, University of Bayreuth, Germany.

2004 Arch Insect Biochem Physiol., Vol. 56(3), 120-122. (E)

Characterization of a novel peptide with allatotropic activity in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*

ABDEL-LATIEF M., MEYERLING-VOS M. and HOFFMANN K.H.

Department of Animal Ecology I, University of Bayreuth, Universitaetsstrasse 30, 95440 Bayreuth, Germany.

2004 Regul Pept., Vol. 122(2), 69-78. (E)

Conformational analysis of peptide analogues of silkworm chorion protein segments using CD, NMR and molecular modelling

BENAKI D.C., MIKROS E. and HAMODRAKAS S.J.

Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, University of Athens, GR 157 71, Athens, Greece.

2004 J Pept Sciences, Vol. 10(6), 381-392. (E)

Influence of the Mineral Potassium Permanganate on the Biochemical Constituents in the Fat Body and Haemolymph of the Silkworm, *Bombyx mori* L.

BHATTACHARYA A. and KALI WAL B.B.

Post-graduate Department of Studies in Biotechnology and Microbiology, Karnatak University, Dharwad-580003, India.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 131-135. (E)

Alpha- and Beta-Amylase Isozyme Expresser Native Proteins in Tropical Silkworm *Bombyx mori* L.

CHATTOPADHYAY G.K., VERMA A.K., SENGUPTA A.K., DAS S.K. and RAJE URS S.

Silkworm Breeding, Genetics & Molecular Bio. Lab., C. S. R. and T. I, West Bengal, India.

2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 189-194. (E)

Cationic Liposomes Mimic the Promoting Protein-Mediated Enhancement of *Bombyx mori* Nucleopolyhedrovirus Replication in Cultured *B. mori* Cells

KANAYA T. and KOBAYASHI J.

Chuo-Sanken Laboratory, Katakura Industries Co. Ltd, 1548 Shimo-Okutomi, Sayama, Saitama 350-1332, Japan.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 1-6. (E)

Innate immune responses of a lepidopteran insect, *Manduca sexta*

KANOST M.R., JIANG H. and YU X.Q.

Department of Biochemistry, Kansas State University, Manhattan, KS 66506, USA.

2004 *Immunol Rev.*, Vol. 198, 97-105. (E)

***Bombyx mori* prothoracicostatic peptide inhibits ecdysteroidogenesis in vivo**

LIU X., TANAKA Y., SONG Q., XU B. and HUA Y.

Institute of Nuclear-Agricultural Science, Zhejiang University, Zhejiang, China.

2004 *Arch Insect Biochem Physiol.*, Vol. 56(4), 155-161. (E)

Involvement of a bifunctional fatty-acyl desaturase in the biosynthesis of the silkworm, *Bombyx mori*, sex pheromone

MOTO K., SUZUKI M.G., HULL J.J., KURATA R., TAKAHASHI S., YAMAMOTO M. *et al.*

RIKEN, Hirosawa 2-1, Wako, Saitama 351-0198, Japan.

2004 *Proc Natl Acad Sciences USA*, Vol. 101(23), 8631-8636. (E)

Amino acid residues involved in interaction with tyramine in the *Bombyx mori* tyramine receptor

OHTA H., UTSUMI T. and OZOE Y.

Dept of Life Science and Biotechnology, Faculty of Life and Environmental Science, Shimane Univ, Matsue, Shimane, Japan.

2004 *Insect Mol Biol.*, Vol. 13(5), 531-538. (E)

Microarray analysis of gene expression profiles in wing discs of *Bombyx mori* during pupal ecdysis

OTE M., MITA K., KAWASAKI H., SEKI M., NOHATA J., KOBAYASHI M. and SHIMADA T.

Department of Agricultural and Environmental Biology, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

2004 *Insect Biochem Mol Biol.*, Vol. 34(8), 775-784. (E)

Evidence for brain-derived neurotrophic factor-like neuropeptide in brain of the silk moth *Bombyx mori* during postembryonic periods

PARK C.W., KIM J.H., KIM K.M., HWANG J.S., KANG S.W., KANG H.S., CHO B.P. *et al.*

School of Life Sciences & Biotechnol, Korea University, Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea.

2004 *Peptides*, vol. 25(11), 1891-1897. (E)

Protein Profile of Haemolymph and Silk glands of Silkworms *Bombyx mori* L. and *Samia Cynthia ricini* Boisduval as Influenced by the Selected Plant Growth Regulators

RAMESHA B.S. and GOVINDAN R.

Department of Sericulture, UAS, GKVK, Bangalore - 560 065, India.

2004 *The Mysore Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 38(1), 25-32. (E)

Distribution of circadian clock-related proteins in the cephalic nervous system of the silkworm, *bombyx mori*

SEHADOVA H., MARKOVA E.P., SEHNAL F. and TAKEDA M.

Div of Molecular Science, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Japan.

2004 *J. Biol. Rhythms.*, Vol. 19(6), 466-482. (E)

Characterization of Trehalase Gene Promoters From Silkworm, *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina* and Transcriptional Regulatory Effects of Diapause Hormone on Them

SHEN X., TANG S., YI Y., ZHAO Q., ZHANG Z., LI Y. and HE J.

Ministry of Agriculture ; Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agr. Sciences, Zhenjiang 212018, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 147-150. (C,e)

Characterization of Ecdysteroid UDP-Glucosyltransferase Gene Promoter from *Bombyx mori* Nucleopolyhedrovirus

SHEN X.-J., YI Y.-Z., TANG S.-M., ZHANG Z.-F., LI Y.-R., HE J.-L. and WU X.-F.
Ministry of Agriculture, Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agr. Sciences,
Zhenjiang 212018, China.
2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 169-174. (E)

Restriction of *Bombyx mori* Nucleopolyhedrovirus (NPV) Replication by *Hyphantria cunea* NPV in a Cell Line from *B. mori*

SHIRATA N., IKEDA M., KAMIYA K., KAWAMURA S. and KOBAYASHI M.
Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan.
2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 23-33. (E)

Relationship between firing activity of bombyxin-producing neurosecretory cells and hemolymph bombyxin titer in the silkworm *Bombyx mori*

SUENOBU A., MIZOGUCHI A. and ICHIKAWA T.
Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan.
2004 Gen Comp Endocrinol., Vol. 137(3), 219-226. (E)

A carotenoid-binding protein (CBP) plays a crucial role in cocoon pigmentation of silkworm (*Bombyx mori*) larvae

TABUNOKI H. *et al.*
Bio-Applications and Systems Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology,
Koganei, Tokyo 184-8588, Japan
2004 FEBS Letters, Vol. 567, 175-178. (E)

Structural Analysis and Identification of Novel Isoforms of the Circadian Clock Gene period in the Silk Moth *Bombyx mori*

TAKEDA Y., CHUMAN Y., SHIRASU N., SATO S., MATSUSHIMA A., KANEKI A. *et al.*
Dept of Chemistry, Faculty and Graduate School of Sciences, Kyushu University, Hakozaki 6-10-1,
Fukuoka 812-8581, Japan.
2004 Zoolog. Sciences, Vol. 21(9), 903-915. (E)

Analysis of the chitin recognition mechanism of cuticle proteins from the soft cuticle of the silkworm, *Bombyx mori*

TOGAWA T., NAKATO H. and IZUMI S.
Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University, Minamiosawa 1-1, Hachioji-shi,
Tokyo 192-0397, Japan.
2004 Insect Biochem. Mol. Biol., Vol. 34(10), 1059-1067. (E)

Hemocyte Function and Antibacterial Activity of Hemolymph After Destroying Hemopoietic Organ of Silkworm, *Bombyx mori*, With Heavy Ion Beam Radio-surgery

TU Z., YE Z., SHI M., LÜ S. and KOBAYASHI Y.
2004 CANYE KEXUE, Acta Sericologica Sinica, Vol. 30(3), 266-268. (C,e)

Phosphorylation of Rab proteins from the brain of *Bombyx mori*

UNO T., NAKAO A. and KATSURAUMA C.
Lab of Biological Chemistry, Dept of Biofunctional Chemistry, Faculty of Agriculture, Kobe Univ,
Nada-ku Hyogo, Japan.
2004 Arch Insect Biochem Physiol., Vol. 57(2), 68-77. (E)

Molecular Cloning and Functional Characterization of a Lepidopteran Insect {beta}4-N-Acetylgalactosaminyltransferase with Broad Substrate Specificity, a Functional Role in Glycoprotein Biosynthesis, and a Potent. Funct. Role in Glycolipid Biosynthesis

VADAIE N. and JARVIS D.L.

Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie, Wyoming 82071, China.

2004 J Biol Chem., Vol. 279(32), 33501-33518. (E)

The angiotensin converting enzyme inhibitor captopril reduces oviposition and ecdysteroid levels in Lepidoptera

VERCRUYSSSE L., GELMAN D., RAES E., HOOGHE B., VERMEIRSEN V. *et al.*

Lab of Agrozoology, Dept of Crop Protection, Fac of Agricul & Applied Biol Sci, Ghent University, Ghent, Belgium.

2004 Arch Insect Biochem Physiol., Vol. 57(3), 123-132. (E)

Growth Suppression of Rat Hepatoma Cells by a Pentapeptide from *Antheraea yamamai*

YANG P., ABE S., ZHAO Y.-P., AN Y. and SUZUKI K.

Department of Agro-Bioscience, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020-8550, Japan.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 7-13. (E)

Utility of Dry Gel from Two-dimensional Electrophoresis for Peptide Mass Fingerprinting Analysis of Silkorm Proteins

ZHANG P., YAMAMOTO K., WANG Y., BANNO Y., FUJII H., MIAKE F. *et al.*

Laboratory of Insect Genetic Resources, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan.

2004 Biosciences Biotechnol. Biochem., Vol. 68(10), 2148-2154. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms : eggs, embryology

Analysis of Diapause-Associated Changes in Silkworm Egg Proteins

GO H.-J., HWANG J.-S., KIM Y.-T., KIM H.-S., KANG S.-W., CHANG J.-S. *et al.*

Department of Life Science, College of Natural Science, Suwon University, Hwaseong 445-743, Korea.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 117-121. (E)

Artificial parthenogenesis and control of vltinism to manage transgenic populations in *Bombyx mori*

GRENIER A.M., DA ROCHA M., JALABERT A., ROYER C., MAUCHAMP B. and CHAVANCY G.

Unité Nationale Séricicole, INRA, 25 quai Jean-Jacques Rousseau, 69350 La Mulatière, France.

2004 Journal of Insect Physiology, Vol. 50, 751-760. (E)

Construction of the Full-length cDNA Library and Selection of Diapause-Associated cDNA Clones from *Bombyx mori* Diapausing Eggs and Diapause-Activated Eggs

HWANG J.-S., GO H.-J., GOO T.-W., YUN E.-Y., CHOI K.-H., SEONG S.-I. *et al.*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Techn., RDA, Suwon 441-100, Korea.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 145-148. (E)

Enhancing Silkworm Fecundity

KUMAR V., SINGH R. and DANDIN S.B.

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore, India.

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

Studies on Long-term Preservation of Eggs of Indian Tropical Multivoltine Silkworm (*Bombyx mori* L.) Genetic Resources

KUMARESAN P., THANGAVELU K. and SINHA R.K.

Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur - 635 109, Tamil Nadu, India.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 79-87. (E)

Metabolic Shifts in Carbohydrate Metabolism during Embryonic Development of Non-Diapause Eggs of the Silkworm, *Bombyx mori*

SAKANO D., FURUSAWA T., SUGIMURA Y., STOREY J.M. and STOREY K.B.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 15-22. (E)

Stimulation of Fecundity through Antennal Amputation in the Mulberry Silkworm, *Bombyx mori* L.

SINGH R., KUMAR V., KARIAPPA B.K., DANDIN S.B. and RAGHAVENDRA RAO D.

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, Karnataka, India.

2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 217-219. (E)

Ecdysteroids during early embryonic development in silkworm *Bombyx mori* metabolism and functions

SONOBE H. and YAMADA R.

Department of Biology, Faculty of Science and Engineering, Konan University, Kobe, Japan.

2004 Zoolog Sciences, Vol. 21(5), 503-516. (E)

Electrophoretic Analysis of Nonspecific Esterases in Silkworm (*Bombyx mori* L.) Female Genitale Organs and Eggs

STAYKOVA T., GREKOV D. and PANAYOTOV M.

Plovdiv University, Department of Genetics, 4000 Plovdiv, Bulgaria.

2004 International Journal of Industrial Entomology, Vol. 9(1), 59-63. (E)

Genetic Analysis of Asexual Reproductive Characters in Silkworm, *Bombyx mori* L.

WANG Y., XU M., MENG Z., HE K., CAO J. and HE X.

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

2004 Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue, Vol. 30(2), 133-136. (C,e)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silkglands

Presence of membrane ecdysone receptor in the anterior silk gland of the silkworm *Bombyx mori*

ELMOGY M., IWAMI M. and SAKURAI S.

Division of Life Sciences, Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Kakumamachi, Japan.

2004 *Eur J Biochem.*, Vol. 271(15), 3171-3179. (E)

Effect of Low Molecular Weight Silk Fibroin on the Inhibition of Tyrosinase Activity

KANG G.D., LEE K.H., SHIN B.S., NAHM J.H. and PARK Y.H.

School of Biological Resources and Materials Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea.

2004 *International Journal of Industrial Entomology*, Vol. 9(1), 29-33. (E)

Structure of *Nephila clavata* flagelliform silk protein gene

SHIMIZU K., KONDO Y., SHIOMI K., KAJIURA Z., TAKEI R. and NAKAGAKI M.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda-shi, Nagano 386-8567, Japan.

2004 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 73(1), 9-14. (J,e)

***Nephila clavata* flagelliform silk protein expressed in insect cells**

SHIMIZU K., SHIOMI K., KAJIURA Z. and NAKAGAKI M.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda-shi, Nagano 386-8567, Japan.

2004 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 73(1), 23-29. (J,e)

Nephila clavata* flagelliform silk protein expressed in *E. coli

SHIMIZU K., SHIOMI K., KAJIURA Z. and NAKAGAKI M.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda-shi, Nagano 386-8567, Japan.

2004 *The Journal of Sericultural Science of Japan*, Vol. 73(1), 15-21. (J,e)

The Study of Adhesive Proteins in the Colleterial Glands of *Antheraea pernyi*

ZHU B., WU J., LU W. and LIU C.

Department of Sericulture, Anhui Agriculture University, Hefei 203036, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 176-179. (C,e)

Soie

Silk

Structure and Structural Changes of the Silk Fibroin from *Samia cynthia ricini* Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

ASAKURA T. and NAKAZAWA Y.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.

2004 Macromol Biosci., Vol. 4(3), 175-185. (E)

Study on *Bombyx mori* silk treated by oxygen plasma

CHEN Y.Y., LIN H., REN Y., WANG H.W. and ZHU L.J.

College of Material Engineering, Suzhou University, Suzhou 215021, China.

2004 J Zhejiang Univ Sciences, Vol. 5(8), 918-922. (E)

Characteristics of Thai Hybrid Silk Fibres from Different Portions of the Cocoon Layer Wastes : Feasibility in Blending with Cotton Fibre

CHOLLAKUP R., SHINOIMERI A. and DREAN J.-Y.

Ecole Nationale Supérieure des Industries Textiles de Mulhouse, Université de Hte Alsace, 68093 Mulhouse Cedex, France.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 39-45. (E)

Transition to a beta-Sheet-Rich Structure in Spidroin in Vitro : The effects of pH and Cations

DICKO C., KENNEY J.M., KNIGHT D. and VOLLRATH F.

Dept of Zool, Oxford University, OXI 3PS, Oxford, U.K., Dept Physics, East Carolina Univ, North Carolina 27858, USA.

2004 Biochemistry, Vol. 43(44), 14080-14087. (E)

Dyeing Silk with Antibiotics

IYENGAR M.N.S.

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

2004 Indian Silk, Vol. 43(6), 29-30. (E)

Immobilization of Trypsin onto Silk Fibroin Fiber via Spacer Arms

LEE K.H., KANG G.D., SHIN B.S., PARK Y.H. and NAHM J.H.

School of Biological Resources and Materials Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea.

2004 Int. Journal of Industrial Entomology, Vol. 8(2), 195-200. (E)

Studies on Silk Degumming Process in Water at High Temperature and Sericin Recovery by Freezing and Unfreezing Method

LIN J. and WANG L.

Zhejiang Institute of Science and Technology, Hangzhou 310033, China.

2004 *Canye Kexue, Acta Sericologica Sinica*, Vol. 30(3), 277-284. (C,e)

The preparation and properties of Modified silk fibroin membranes by chitosan

LIU L., WU Z., LI P., CAI S. and CHEN X.

Department of Chemistry, Zhejiang, Zhejiang Shaoxing Arts and Sciences College, Shaoxing 312000, China.

2004 *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, Vol. 21(4), 587-590. (E)

The inflammatory responses to silk films in vitro and in vivo

MEINEL L., HOFMANN S., KARAGEORGIOU V., KIRKER-HEAD C., McCOOL J. et al.

Department of Biomedical Engineering, Tufts University, 4 Colby Street, Medford, MA 02155, USA.

2004 *Biomaterials*, Vol. 26(2), 147-155. (E)

Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds

MEINEL L., HOFMANN S., KARAGEORGIOU V., ZICHNER L., LANGER R. et al.

Div of Health Sciences & Technology, Mass Inst of Technology, E25-330, 45 Carleton Street, Cambridge, Massach 02139, USA

2004 *Biotechnol Bioeng.*, Vol. 88(3), 379-391. (E)

Dissolution and Regeneration of *Bombyx mori* Silk Fibroin Using Ionic Liquids

PHILLIPS D.M., DRUMMY L.F., CONRADY D.G., FOX D.M., NAIK R.R. et al.

Materials & Manufacturing Directorate, Air Force Research Lab, 2941 Hobson Way, Wright-Patterson AFB, Ohio 45433, USA.

2004 *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 126(44), 14350-14351. (E)

Research Report of the CS02 Model of Floss Silk Machine

TAN H., MENG F., LI F., LIAO M., YAO D. and LONG T.

Hunan Sericulture Scientific Research Institute, Lixian 415500, China.

2004 *Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue*, Vol. 30(2), 221-223. (C,e)

Chemical Modification of Silk Sericin in Lithium Chloride/Dimethyl Sulfoxide Solvent with 4-Cyanophenyl Isocyanate

TERAMOTO H., NAKAJIMA K.-I. and TAKABAYASHI C.

New Silk Materials Laboratory, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-4-8 Gohda, Okaya, Nagano 394-0021, Japan

2004 *Biomacromolecules*, Vol. 5, 1392-1398. (E)

Wet spinning of silk polymer. II. Effect of drawing on the structural characteristics and properties of filament

UM I.C., KI C.S., KWEON H., LEE K.G., IHM D.W. and PARK Y.H.

Department of Natural Fiber Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, South Korea.

2004 *Int J Biol Macromol.*, Vol. 34(1-2), 107-119. (E)

Wet spinning of silk polymer. I. Effect of coagulation conditions on the morphological feature of filament

UM I.C., KWEON H., LEE K.G., IHM D.W., LEE J.H. and PARK Y.H.

Department of Natural Fiber Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, South Korea.

2004 *Int J Biol Macromol.*, Vol. 34(1-2), 89-105. (E)

Studies on the Relationship between Cocoon Parameters and Raw Silk Uniformity Characteristics

VASUMATHI B.V., TAKABAYASHI C., NAKAJIMA K. and SOMASHEKAR T.H.

Central Silk Technological Research Institute (CSTRI), Central Silk Board, Bangalore-560 068, India.

2004 Journal of Insect Biotechnology and Sericology, Vol. 73(1), 47-56. (E)

Structural analysis of *Bombyx mori* silk fibroin peptides with formic acid treatment using high-resolution solid-state ^{13}C NMR spectroscopy

YAO J., OHGO K., SUGINO R., KISHORE R. and ASAKURA T.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, 184-8588, Japan.

2004 Biomacromolecules, Vol. 5(5), 1763-1769. (E)

Preparation of semi-interpenetrating polymer networks composed of silk fibroin and poloxamer macromer

YOO M.K., KWEON H.Y., LEE K.G., LEE H.C. and CHO C.S.

School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 151-742, South Korea.

2004 Int. J. Biol. Macromol., Vol.34(4), 263-270. (E)

Effects of pH and calcium ions on the conformational transitions in silk fibroin using 2D Raman correlation spectroscopy and ^{13}C solid-state NMR

ZHOU P., XIE X., KNIGHT D.P., ZONG X.H., DENG F. and YAO W.H.

Dept of Macromolecular Science, Fudan Univ, Shanghai 200433, China.

2004 Biochemistry, Vol. 43(35), 11302-11311. (E)

Biochemistry Properties of *Streptomyces flavovirens* A8 Immobilized on Silk Fibroin

ZHU X. and XU J.

College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

2004 Acta Sericologica Sinica, Canye Kexue, Vol. 30(2), 143-146. (C,e)

